



TUGAS AKHIR - SB141510

**PENGARUH MONOSODIUM GLUTAMAT (MSG)
KOMERSIAL TERHADAP PERTUMBUHAN
ISOLAT BAKTERI *Bacillus* PL01 DAN
Pseudomonas PL01 PADA MINERAL SALT
MEDIUM**

**RIZKA RAHMAWATI
NRP. 1512 100 003**

**Dosen Pembimbing
Dr. rer. nat. Ir. MAYA SHOVI TRI, M.Si.**

**JURUSAN BIOLOGI
Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam
Institut Teknologi Sepuluh Nopember
Surabaya 2016**



FINAL PROJECT - SB141510

**EFFECT MONOSODIUM GLUTAMATE (MSG)
AND MINERAL SALT MEDIUM ON THE
GROWTH OF *Bacillus* PL01 AND
Pseudomonas PL01**

**RIZKA RAHMAWATI
NRP. 1512 100 003**

**Advisor Lecture
Dr. rer. nat. Ir. MAYA SHOVI TRI, M.Si.**

**DEPARTEMENT OF BIOLOGY
Faculty Of Mathematics And Natural Sciences
Institut Teknologi Sepuluh Nopember
Surabaya 2016**

LEMBAR PENGESAHAN

PENGARUH MONOSODIUM GLUTAMAT (MSG) KOMERSIAL TERHADAP PERTUMBUHAN ISOLAT BAKTERI *Bacillus* PL01 DAN *Pseudomonas* PL01 PADA MINERAL SALT MEDIUM

TUGAS AKHIR

Diajukan Untuk Memenuhi Salah Satu Syarat
Memperoleh Gelar Sarjana Sains
pada

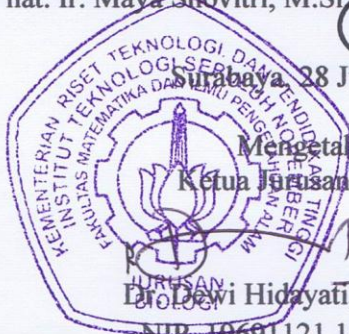
Jurusan S-1 Biologi
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Institut Teknologi Sepuluh Nopember

Oleh :

RIZKA RAHMAWATI
NRP. 1512 100 003

Disetujui oleh Pembimbing Tugas Akhir :

Dr. rer. nat. Ir. Maya Shovitri, M.Si. (Pembimbing I)



Surabaya, 28 Juni 2016

Mengetahui,
Ketua Jurusan Biologi

Dr. Dewi Hidayati, S.Si., M.Si.
NIP. 19691121 19982 2 001

PENGARUH MONOSODIUM GLUTAMAT (MSG)
KOMERSIAL TERHADAP PERTUMBUHAN ISOLAT
BAKTERI *Bacillus* PL01 DAN *Pseudomonas* PL01 PADA
MINERAL SALT MEDIUM

Nama Mahasiswa : Rizka Rahmawati
NRP : 1512100003
Jurusan : Biologi
Dosen Pembimbing : Dr. rer. nat. Ir. Maya Shovitri,
M.Si.

Abstrak

MSG merupakan hasil purifikasi glutamat sintesis yang dapat menjadi makronutrient penyusun komponen seluler. Tujuan dalam penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian MSG terhadap pertumbuhan isolat bakteri Bacillus PL01 dan Pseudomonas PL01 pada MSM. Sebagai kontrol digunakan medium Lactose Broth (LB). Pertumbuhan diukur setiap 1 jam sekali selama 48 jam. Parameter yang diukur adalah Optical Density (OD) λ 600nm, jumlah sel bakteri, serta pengukuran diameter sel. Data dianalisis secara deskriptif kuantitatif dengan Analysis of Variance (ANOVA).

Pada Bacillus PL01 pertumbuhan tertinggi terjadi setelah 16 jam masa inkubasi pada konsentrasi 0,5 gr/L MSG dengan nilai serapan OD 600nm yang setara dengan $3.93E+06$ Sel/mL serta ukuran sel mencapai $1,8\mu\text{m} \times 1,2\mu\text{m}$, dimana pertumbuhannya melebihi pertumbuhan di medium LB. Namun terjadi penurunan pertumbuhan seiring dengan peningkatan konsentrasi MSG. Pada Pseudomonas PL01 pertumbuhan tertinggi setelah 16 jam masa inkubasi terjadi pada konsentrasi 2 gr/L MSG dengan nilai serapan OD 600nm yang setara dengan $9.97E+05$ Sel/mL serta ukuran sel mencapai $2,4\mu\text{m} \times 1,1\mu\text{m}$. Pertumbuhan Pseudomonas PL01 masih berada dibawah LB. Berbanding terbalik dengan Bacillus PL01, pada Pseudomonas

PL01 semakin tinggi konsentrasi MSG, maka pertumbuhannya semakin tinggi pula.

Kata kunci: Bacillus PL01, MSG, MSM, Pertumbuhan Sel, Pseudomonas PL01

EFFECT MONOSODIUM GLUTAMATE (MSG) COMSM ERCIAL ON THE GROWTH OF *Bacillus* PL01 AND *Pseudomonas* PL01 ISOLATE IN MINIMAL MEDIUM

Student Name : Rizka Rahmawati
NRP : 1512100003
Department : Biology
Advisor : Dr. rer. nat. Ir. Maya Shovitri, M.Si.

Abstract

MSG is a synthetic purified glutamate that can be used as a nitrogen source for microorganisms growth. The purpose of this research was to determine the effect of MSG on *Bacillus* PL01 and *Pseudomonas* PL01 growth in a *Mineral Salt Medium*. As a control medium Lactose Broth (LB) was used. The bacterial growth was measured every 1 hour for 48 hours spectrophotometrically (OD 600nm), cells number using was counted and cell shape was measured. Data were analyzed statistically using a Quantitative with Analysis of Variance (ANOVA).

In 0,5 gr/L MSG containing MSM, *Bacillus* PL01 growth a highest speed after 16 hours it reached OD 600nm that equals to $3.93E+06$ Cell/mL, and the cell size was around $1,8\mu\text{m} \times 1,2\mu\text{m}$. This growth was even higher compared with it in LB. While *Pseudomonas* PL01 reached the highest growth in 2 g/L MSG containing MSM with OD 600nm that equals to $9.97E+05$ Cell/mL with the cell size about $2,4\mu\text{m} \times 1,1\mu\text{m}$, but *Pseudomonas* PL01 was more prefer to grow in LB at which its growth was the best. The growth was increase over the MSG concentration, even they were still lower than it in LB.

Keywords: *Bacillus* PL01, Cell growth, MSG, MSM, *Pseudomonas* PL01.

KATA PENGANTAR

Puji syukur saya panjatkan kepada Allah SWT sehingga dapat menyelesaikan Tugas Akhir dengan judul **Pengaruh Monosodium Glutamat (MSG) Komersial Terhadap Pertumbuhan Isolat Bakteri *Bacillus* PL01 dan *Pseudomonas* PL01 pada *Mineral Salt Medium***. Penelitian ini dilakukan mulai bulan Februari – Mei 2016. Penyusunan Tugas Akhir ini merupakan suatu syarat untuk memperoleh gelar sarjana strata 1 (S1) pada Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Teknologi Sepuluh Nopember Surabaya.

Penelitian dan penyusunan Proposal Tugas Akhir ini telah melibatkan bimbingan dan bantuan dari berbagai pihak. Penulis mengucapkan terimakasih kepada Ibu Dr. rer.nat. Ir. Maya Shovitri, S.Si., M.Si. selaku pembimbing, Bapak Triono Bagus Saputro, M.biotech selaku Penguji I, serta Ibu Dr. Enny Zulaika, M.P. selaku Penguji II. Ucapan terimakasih juga penulis sampaikan pada pihak LPPM ITS atas bantuan dana penelitian Unggulan Perguruan Tinggi Skema Desentralisasi No. 01712/IT2-11/PN.08/2016 dan *road map* laboratorium Mikrobiologi dan Bioteknologi Jurusan Biologi. Penulis juga mengucapkan terimakasih kepada ayahanda Saikhu Rohman, ibunda Anik Priutami atas segala doa restu, dan seluruh pihak yang telah membantu.

Penulis menyadari masih terdapat kekurangan pada proposal ini. Namun, penulis berharap bahwa proposal ini dapat bermanfaat dan memberikan wawasan yang luas bagi semua pihak.

Surabaya, 28 Juni 2016

Penulis

DAFTAR ISI

LEMBAR PENGESAHAN.....	iii
Abstrak	iv
Abstract	vi
KATA PENGANTAR.....	vii
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR LAMPIRAN.....	xii
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Batasan Masalah	3
1.4 Tujuan.....	3
1.5 Manfaat.....	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	5
2.1 Monosodium Glutamat.....	5
2.2 Sumber Karbon.....	7
2.3 Sumber Nitrogen	8
2.4 Nutrisi Mikroba	8
2.5 Bakteri	12
2.6 Metode Perhitungan Bakteri.....	18
2.7 Kurva Pertumbuhan.....	22
BAB III METODOLOGI	25
3.1 Waktu dan Lokasi Penelitian.....	25
3.2 Isolat yang Digunakan	25
3.2.1 Purifikasi dan Rekonfirmasi Bakteri Uji	25

3.2.2. Pembuatan starter	28
3.2.3. Optimasi Pengukuran Kurva Pertumbuhan..	28
3.2.4. Pengukuran Kurva Pertumbuhan Uji	29
3.2.5. Pengukuran Diameter Sel.....	30
3.3 Rancangan Penelitian dan Analisis Data	31
 BAB IV	 33
4.1 Hasil Rekonfirmasi <i>Bacillus</i> dan <i>Pseudomonas</i> ..	33
4.2 Pengaruh MSG Terhadap <i>Bacillus</i> PL01 dan <i>Pseudomonas</i> PL01	34
4.2.1. <i>Bacillus</i> PL01	39
4.2.2. <i>Pseudomonas</i> PL01	41
4.3. Korelasi Perhitungan OD dan Jumlah Sel	44
4.4. Pengaruh MSG Terhadap Ukuran Sel	47
 BAB V	 53
5.1 Kesimpulan.....	53
5.2. Saran	53
DAFTAR PUSTAKA	55
LAMPIRAN	65

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Struktur Kimia MSG.....	6
Gambar 2.2 Morfologi Sel Bakteri.....	13
Gambar 2.3 Perbandingan Struktur Dinding Sel Bakteri Gram Positif dan Gram Negatif	15
Gambar 2.4 Struktur Peptidoglikan Bakteri Gram Positif dan Bakteri Gram Negatif	16
Gambar 2.5 Morfologi Sel <i>Bacillus</i> sp.....	17
Gambar 2.6 Morfologi Sel <i>Pseudomonas</i> sp.	18
Gambar 2.7 Skema Kerja Spektrofotometer UV-Vis	20
Gambar 2.8 <i>Haemacytometer</i>	21
Gambar 2.9 Kurva Pertumbuhan Bakteri	22
Gambar 2.10 Kurva Pertumbuhan <i>Bacillus</i> Strain TA2.A1. pada MSM dengan Penambahan Glutamat.....	24
Gambar 4.1 Kurva Pertumbuhan (A) <i>Bacillus</i> PL01 (B) <i>Pseudomonas</i> PL01.....	36
Gambar 4.2 Kurva Korelasi Perhitungan OD dan Jumlah Sel (A) <i>Bacillus</i> PL01 0,5 gr/L MSG (B) <i>Pseudomonas</i> PL01 2 gr/L MSG	46
Gambar 4.3 Ukuran Sel <i>Bacillus</i> PL01.....	49
Gambar 4.4 Ukuran Sel <i>Pseudomonas</i> PL01.....	51

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Elemen Makronutrien dan Mikronutrien yang Diperlukan oleh Mikroba	9
Tabel 2.2 Fungsi <i>Trace element</i> bagi mikroba	10
Tabel 2.3 Perbedaan Lapisan Dinding Sel Bakteri Gram Negatif dan Bakteri Gram Negatif	19
Tabel 3.1 Konsentrasi MSG pada MSM	29
Tabel 4.1 Hasil Uji Rekonfirmasi <i>Bacillus</i> PL01 dan <i>Pseudomonas</i> PL01.....	33
Tabel 4.2 Hasil ANOVA <i>General Linear Model</i> (GLM).....	40
Tabel 4.3 Hasil Uji Tukey <i>Bacillus</i> PL01.....	41
Tabel 4.4 Hasil ANOVA <i>General Linear Model</i> (GLM).....	43
Tabel 4.5 Hasil Uji Tukey <i>Pseudomonas</i> PL01.....	43

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Komposisi Medium.....	65
Lampiran 2 Diagram Alir Penelitian.....	68
Lampiran 3 Korelasi Kurva OD dan Jumlah Sel.....	71

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Monosodium Glutamat (MSG) adalah garam natrium dari asam glutamat (*glutamic acid*) yang berfungsi sebagai penambah rasa makanan dalam bentuk *L-glutamic acid* sehingga mampu menghasilkan rasa makanan yang lebih lezat (Prawirohardjono *et al.*, 2000). MSG merupakan hasil purifikasi glutamat atau gabungan dari beberapa asam amino dengan sejumlah kecil peptida melalui proses hidrolisa protein (*Hydrolized Vegetable Protein/HVP*). Asam glutamat adalah kelompok asam amino *non essential* yang diabsorpsi menjadi urea melalui hati, 6% menjadi plasma protein, 23% absorpsi asam amino melalui sirkulasi umum sebagai asam amino bebas, dan sisanya 14% diduga disimpan sementara di dalam hati sebagai protein hati atau enzim (Santoso, 2008). Metabolisme asam amino *non essential* termasuk glutamat menyebar luas di dalam jaringan tubuh (Giacometti, 2002).

Glutamat berperan penting dalam proses sintesa protein dan terkandung dalam protein sebesar 10-40%. *L-glutamic acid* pada glutamat merupakan bahan yang penting untuk sintesis protein (Molina, 2004). Selain itu glutamat memiliki fungsi lain yaitu sebagai prekursor glutamin. Glutamat dan glutamin merupakan mata rantai karbon dan nitrogen di dalam proses metabolisme karbohidrat dan protein (Ganong, 1983). Asam amino digolongkan sebagai makronutrient karena dibutuhkan dalam jumlah yang banyak untuk menyusun komponen seluler (McDonald *et al.*, 2007). Gugus NH₂ pada struktur kimia MSG berperan sebagai sumber nitrogen dalam proses pembentukan asam amino yang digunakan selama proses pertumbuhan mikroorganisme (Geha, 2000).

Menurut Akiba *et al.* (1983) pemberian sodium glutamat sebanyak 2 g/L pada medium mineral dapat berperan sebagai substrat organik yang mendukung pertumbuhan bakteri

fotosintetik nonsulfur strain R1 pada spesies *Rhodopseudomonas vutilla*. Selanjutnya pada penelitian Peddie *et al.*, (1999) telah dilaporkan bahwa isolat *Bacillus* Strain TA2.A1 mampu tumbuh cepat ketika minimal medium yang digunakan untuk pertumbuhan bakteri ditambahkan dengan 2 g/l glutamat dan hasil pengukuran *Optical Density* (OD) meningkat seiring peningkatan konsentrasi sodium mulai dari 5-100mm Pada penelitian Saimmai (2012) membuktikan bahwa glutamat dari MSG komersial merupakan sumber nitrogen yang paling efisien bagi isolat bakteri *Bacillus* sp. dan *Pseudomonas* sp. dalam menghasilkan senyawa biosurfaktan, meningkatkan biomassa, serta meningkatkan kemampuan dalam mereduksi suatu senyawa kimia. Penambahan MSG sebanyak 1% dalam 50 mL *Mineral Salt Medium* (MSM) sudah dilaporkan dapat meningkatkan pertumbuhan isolat bakteri *Bacillus* sp. dan *Pseudomonas* sp. Benton (2008) menjelaskan bahwa MSM merupakan medium yang mengandung konsentrasi garam anorganik serta dapat mendukung pertumbuhan suatu mikroorganisme.

Menurut beberapa penelitian membuktikan bahwa isolat bakteri *Bacillus* sp. dan *Pseudomonas* sp. mampu mendegradasi plastik. Pada penelitian Fadilah dan Shovitri (2014) membuktikan bahwa isolat bakteri *Bacillus* sp. dan *Pseudomonas* sp. mampu melakukan biodegradasi plastik tas kresek dengan menggunakan MSM. Hasil penelitian menunjukkan kemampuan isolat bakteri *Bacillus* sp. dalam mendegradasi plastik putih dan hitam secara berturut adalah 1,9% dan 2,3% . Pada penelitian selanjutnya, Sriningsih dan Shovitri (2015) melakukan penelitian mengenai potensi isolat bakteri *Pseudomonas* L1 dalam mendegradasi plastik menggunakan MSM yang tidak mengandung sumber karbon. Hasil penelitian membuktikan bahwa isolat bakteri *Pseudomonas* L1 mampu mendegradasi plastik hitam, putih, dan transparan secara berturut adalah 2,7%, 3,3% dan 4,5% selama 3 bulan masa inkubasi.

Dilihat dari beberapa penelitian diatas dapat diketahui bahwa isolat bakteri *Bacillus* sp. dan *Pseudomonas* sp. mampu

tumbuh pada medium yang ditambahkan MSG sehingga pada penelitian ini pengaruh pemberian MSG akan diuji terhadap pertumbuhan isolat bakteri *Bacillus* PL01 dan *Pseudomonas* PL01 yang berpotensi mendegradasi plastik. Penambahan MSG diharapkan juga mampu meningkatkan pertumbuhan isolat bakteri *Bacillus* PL01 dan *Pseudomonas* PL01, dengan asumsi bahwa MSG dapat menyediakan sumber N dan glutamat.

1.2 Rumusan Masalah

Permasalahan pada penelitian ini adalah bagaimana pengaruh pemberian MSG terhadap pertumbuhan isolat bakteri *Bacillus* PL01 dan *Pseudomonas* PL01 pada MSM.

1.3 Batasan Masalah

Batasan masalah dalam penelitian ini adalah :

- Bakteri isolat *Bacillus* PL01 dan *Pseudomonas* PL01 diambil dari penelitian sebelumnya yang telah beradaptasi untuk mendegradasi plastik.
- Faktor lingkungan meliputi suhu, pH, dan tekanan selama proses perlakuan diasumsikan sama atau diabaikan.
- Sumber MSG adalah MSG komersial yang ada di pasaran lokal

1.4 Tujuan

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian MSG terhadap pertumbuhan isolat bakteri *Bacillus* PL01 dan *Pseudomonas* PL01 pada MSM.

1.5 Manfaat

Manfaat yang diperoleh yaitu MSG pada penelitian ini diharapkan mampu mendukung pertumbuhan isolat bakteri *Bacillus* PL01 dan *Pseudomonas* PL01 yang dapat dimanfaatkan sebagai agen biodegradasi plastik.

“Halaman ini sengaja dikosongkan”

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

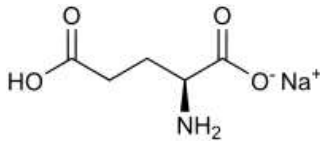
2.1 Monosodium Glutamat

Sumber-Sumber MSG

Asam glutamat digolongkan pada asam amino *non essential* karena tubuh manusia sendiri dapat menghasilkan asam glutamat. Glutamat dibuat dalam manusia dan memiliki peran *esensial* dalam metabolisme. Sekitar 2 kg glutamat terdapat secara alami dalam otak, ginjal, hati dan pada jaringan lain pada tubuh manusia. Selain itu glutamat terdapat dalam jumlah besar di air susu ibu, jumlahnya mencapai sekitar sepuluh kali lipat lebih banyak dibanding pada susu sapi. Glutamat dalam bentuk alami didapat dari makanan seperti tomat, keju, susu, daging, kacang kapri, jamur dan kecap yang merupakan hasil fermentasi (Loliger, 2000). Tubuh manusia terdiri dari 14-17 % protein dan seperlimanya merupakan asam glutamat dalam protein (Shewry, 2006). MSG juga dapat dibuat melalui proses fermentasi dari tetes gula (molases) oleh bakteri *Brevibacterium lactofermentum* (Jinap, 2010).

Sifat Kimia MSG

MSG mempunyai rumus kimia $C_5H_8O_4NNaH_2O$ yang terdiri atas Natrium sebanyak 12%, glutamat 78%, dan air 10%. MSG bersifat larut dalam air (Geha, 2000). Glutamat yang terdapat dalam MSG merupakan suatu asam amino yang banyak dijumpai pada beberapa makanan, kandungan glutamat 20% dari total asam amino pada beberapa makanan terdapat baik bebas maupun terikat dengan peptida atau protein. Glutamat yang terdapat di dalam MSG berasal dari hidrolisa protein serta tergolong jenis glutamat dalam bentuk bebas (Young, 2000). Struktur kimia MSG dapat dilihat pada Gambar 2.1



Gambar 2.1 Struktur Kimia MSG (Loliger, 2000).

Metabolisme Asam Glutamat

Metabolisme asam amino *non essential* termasuk glutamat menyebar luas di dalam jaringan tubuh. MSG diproses di dalam tubuh sama seperti metabolisme asam glutamat. Asam amino dekarboksilat, glutamat, dan aspartat menempati posisi unik dalam metabolisme perantara (Giacometti, 2002). Glutamat memiliki beberapa fungsi penting di dalam proses metabolisme pada tubuh, antara lain :

- Substansi untuk Sintesa Protein

Glutamat sebagai salah satu asam amino yang banyak terdapat pada sumber alami. *L-glutamic acid* pada protein merupakan bahan yang penting untuk sintesa protein. Asam glutamat memiliki karakter fisik dan kimia yang dapat menjadi struktur sekunder dari protein yang disebut rantai α (Molina, 2004).

- Prekursor Glutamin

Glutamin dibentuk dari glutamat oleh glutamine sintetase. Hal ini juga merupakan reaksi yang sangat penting di dalam metabolisme asam amino. Amonia akan dikonversikan menjadi glutamin sebelum masuk ke proses sirkulasi. Glutamat dan glutamin merupakan mata rantai karbon dan nitrogen di dalam proses metabolisme karbohidrat dan protein (Ganong, 1983).

MSG memiliki dampak negatif bila dikonsumsi secara berlebihan oleh tubuh. Secara normal otak dilindungi oleh *Blood Brain Barrier* yang fungsinya mencegah glutamat berlebih di otak. Apabila terjadi kelebihan glutamat, glutamat akan dipompa

kembali ke dalam sel-sel glia yang mengelilingi neuron (Giovan, 2003). Bila neuron terpapar glutamat dalam jumlah besar maka sel-sel tersebut akan mati. Glutamat membuka Ca^{2+} channel neuron sehingga Ca^{2+} dapat masuk ke dalam sel (Giovan, 2003). Sejumlah reaksi kimia terjadi dalam sel yang seringkali memicu pelepasan senyawa kimia. Bila kadar glutamat berlebih, Ca^{2+} channel akan tetap terbuka sehingga reaksi kimia juga akan semakin meningkat mengawali pengrusakan sel tersebut dan sel-sel yang memiliki reseptor glutamat (Giovan, 2003). Beberapa tempat di otak tidak bisa dilindungi oleh *Blood Brain Barrier* termasuk *nucleus arcuatus* dan *nucleus ventromedial* di hipotalamus. Sebagai pusat pengaturan homeostasis, hipotalamus mengatur pengeluaran hormon yang bekerja pada gonad. Kerusakan *nucleus arcuatus* dan *nucleus ventromedial* di hipotalamus mengakibatkan penurunan sekresi GnRH (*Gonadotrophin Releasing Hormone*) sehingga mempengaruhi hipofisis anterior dalam mensekresi hormon-hormon gonadotropin yaitu *Follicle Stimulating Hormone* (FSH) dan *Luteinizing Hormone* (LH) menjadi turun (Reeds, 2000).

2.2 Sumber Karbon

Suatu media kultur harus mengandung elemen yang dibutuhkan untuk pertumbuhan mikroba dalam proporsi yang sesuai bagi sel mikroba (Berg, 2007). Sumber karbon yang biasa digunakan adalah karbohidrat berupa glukosa, hidrokarbon dan minyak sayuran seperti minyak kacang kedelai yang digunakan oleh bakteri dalam pertumbuhannya. Salah satu jenis sumber karbon dari limbah yang dapat digunakan adalah molase dan limbah kedelai (Bezkorovainy, 2001).

Menurut Berg *et al.*, (2007), sumber karbon dan nitrogen merupakan komponen utama dalam suatu media kultur, karena sel-sel mikroba dan fermentasi sebagian besar memerlukan sumber karbon dan nitrogen dalam prosesnya. Peningkatan produksi pertumbuhan sel-sel memerlukan nutrisi yang optimum. Selain itu jumlah mikroorganisme yang terbentuk juga

dipengaruhi pula oleh jenis sumber karbon, temperatur, pH dan aerasi (Caggiano, 2010).

2.3 Sumber Nitrogen

Nitrogen adalah salah satu dari beberapa unsur nutrisi yang mampu dimanfaatkan oleh mikroorganisme untuk kebutuhannya. Nitrogen ini terdapat dalam dua bentuk senyawa kimia yaitu N-organik dan N-anorganik. Senyawa N-organik merupakan senyawa utama yang paling dibutuhkan oleh mikroorganisme (Walstra, 2006). Senyawa N-organik yang dibutuhkan oleh mikroorganisme biasanya digunakan sebagai sumber nitrogen bagi pertumbuhan seperti sulfur (Vincent, 2004). Salah satu contoh N-anorganik adalah urea dan asam amino, dimana nitrogen juga dapat menjadi faktor pembatas karena dibutuhkan dalam jumlah yang besar (Caggiano, 2010).

Sumber nitrogen yang biasa digunakan adalah amonium nitrat (NH_4NO_3), urea, KNO_3 , NH_4Cl , dan NaNO_3 (Lehninger, 1982). Selain itu senyawa nitrogen yang lain dapat juga dimanfaatkan oleh mikroorganisme untuk perkembangannya adalah senyawa nitrogen anorganik yang meliputi nitrat, nitrit, amonium (Bezkorovainy, 2001). Berbagai penelitian telah dilakukan untuk mendapatkan rasio yang terbaik antara karbon, nitrogen, fosfor dan besi yang dibutuhkan untuk mendapatkan produksi yang tinggi (Tortora, 2006).

2.4 Nutrisi Mikroba

Mayoritas komponen seluler adalah karbon, oksigen, hidrogen, nitrogen, dan fosfor dan elemen ini merupakan penyusun utama membran, protein, asam nukleat dan struktur seluler lainnya. (Martin, 2007). Elemen ini diperlukan paling banyak oleh mikroba untuk menyusun komponen selulernya, Oleh karena itu disebut makronutrien. Elemen lainnya yang sedikit diperlukan oleh mikroba untuk menyusun komponen selulernya disebut mikronutrien. Elemen lainnya yang sangat sedikit (bahkan tidak terukur) diperlukan sel untuk menyusun komponen seluler, tetapi harus tetap ada dalam nutrisinya disebut

trace element (Tortora G.J. and Derrickson B., 2006). Semua elemen yang diperlukan oleh mikroba terangkum dalam Tabel 2.1 dan 2.2. Faktor pertumbuhan merupakan molekul organik yang penting bagi pertumbuhan tetapi tidak mampu disintesis oleh mikroba sendiri seperti vitamin dan asam amino (Tortora G.J. and Derrickson B., 2006). Elemen makronutrien dan mikronutrien yang dibutuhkan oleh mikroba dapat dilihat pada Tabel 2.1

Tabel 2.1 Elemen Makronutrien dan Mikronutrien yang Diperlukan oleh Mikroba (Almatsier S., 2006)

Element	% berat kering	Sumber	Fungsi
Makronutrien			
Karbon (C)	50	Senyawa organik atau CO ₂	Material seluler
Oksigen (O)	20	H ₂ O, senyawa organik, CO ₂ , O ₂	Material, air seluler, aseptor elektron
Nitrogen (N)	14	NH ₃ , NO ₃ , senyawa organik, N ₂	A.Amino, A.nukleat
Mikronutrien			
Sulfur (S)		SO ₄ , H ₂ S, S, sulfur organik	Metionin, koenzim
Kalium (K)	1	Garam Kalium	Kation anorganik

Beberapa spesies mampu memanfaatkan molekul sederhana sebagai sumber makronutrien, mikronutrien, dan *trace element* dan menyintesisnya menjadi molekul kompleks untuk pertumbuhan dirinya. Beberapa spesies sangat tergantung pada molekul organik sebagai sumber makronutrien, mikronutrien, dan *trace element* (Combs, 2000). Fungsi *Trace element* yang dibutuhkan oleh mikroba dapat dilihat pada Tabel 2.2

Tabel 2.2 Fungsi *Trace element* bagi mikroba (Nishijima, 2005)

Elemen	Fungsi
Cobalt	Bagian dari vitamin B12, biasanya digunakan untuk membawa gugus metil
Zinc	Berperan struktural pada enzim termasuk enzim DNA polimerase
Mo	Diperlukan untuk asimilasi nitrogen, ditemukan di nitrat reduktase dan nitrogenase
Cu	Berperan katalitik pada beberapa enzim yang bereaksi dengan oksigen seperti sitokrom oksidase
Mn	Diperlukan oleh sejumlah enzim pada tempat katalitik. Enzim fotosintetik tertentu menggunakan Mn untuk memecah air menjadi proton dan oksigen
Ni	Berperan pada beberapa enzim, termasuk enzim untuk metabolisme CO, urea, dan metanogenesis

Media minimal (*minimal media*)

Media yang berisi sejumlah nutrisi minimal bagi pertumbuhan mikroba. Media minimal termasuk media sintetik. Media ini umumnya hanya terdiri dari garam-garam mineral anorganik. Media minimal diperlukan untuk mengetahui kebutuhan akan nutrisi dan analisis genetik (Ahmed, 2001).

Media selektif (*selective media*)

Media formulasi untuk menghambat pertumbuhan mikroba tertentu dan menumbuhkan mikroba yang diinginkan.

Media selektif pada dasarnya adalah media untuk mikroba yang diinginkan dan ditambah faktor penghambat untuk mikroba lain yang dapat hidup di media sama (Bezkorovainy, 2001). Media dapat digunakan untuk mengelompokan atau membedakan mikroba (Minaxi, 2013). Media selektif bermanfaat untuk menyeleksi mikroba tertentu (Minaxi, 2013).

Media diperkaya (*enrichment media*)

Media kaya untuk mikroba tertentu. Media diperkaya dengan menyediakan nutrisi bagi pertumbuhan mikroba tertentu dan agen penyeleksi untuk menghambat pertumbuhan mikroba yang tidak diinginkan. Sehingga media diperkaya dapat dikatakan sebagai media selektif yang diperkaya (Corry, 2003). Contoh media diperkaya adalah media bebas nitrogen untuk isolasi bakteri penambat nitrogen dan media 2,4-D untuk isolasi bakteri pengonsumsi herbisida *2,4-dichlorophenoxyacetic acid* (Corry, 2003).

Media diferensial (*differential media*)

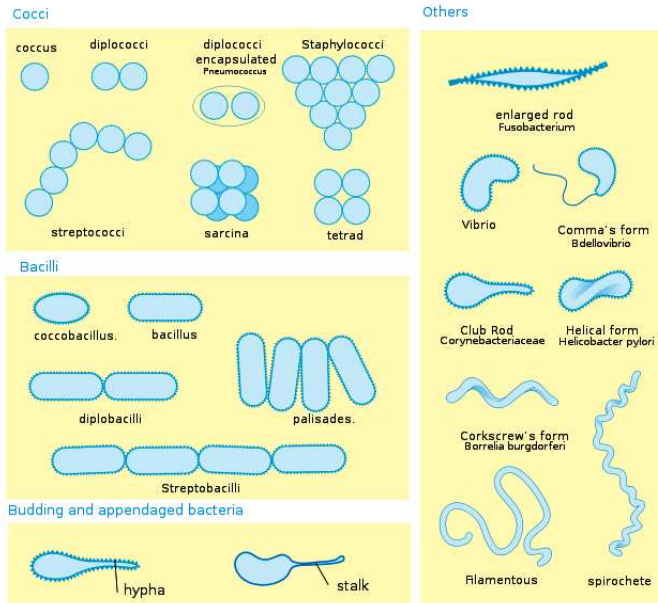
Media yang tidak mengandung agen penghambat, tetapi mengandung agen pembeda antara dua kelompok mikroba berbeda. Contohnya pada media laktosa mengandung *bromcresol blue* yang mampu membedakan penampakan koloni bakteri fermentasi laktosa. (Walstra, 2006). Media di sekitar bakteri yang mampu memfermentasi laktosa akan berubah warna menjadi kuning. Sebaliknya media di sekitar bakteri yang tidak mampu memfermentasi laktosa akan tetap berwarna ungu (Bezkorovainy, 2001). Selain *bromcresol blue* media laktosa terdiri atas pepton, *beef extract*, dan laktosa (Corry, 2003).

Media harus disterilisasi sebelum digunakan untuk kultivasi dan isolasi mikroba. Sterilisasi yang umum untuk media adalah dengan autoklaf pada suhu 121⁰C dengan tekanan 1atm. Namun untuk komponen nutrisi yang tidak tahan panas seperti vitamin, antibiotik, dan beberapa asam amino dilakukan filtrasi terpisah dari media pokok. Vitamin dan antibiotik dimasukkan

secara aseptis ke media pokok setelah media dingin dan masih cair (Corry, 2003; Walstra, 2006).

2.5 Bakteri

Nama bakteri berasal dari bahasa Yunani "*bacterion*" yang berarti batang atau tongkat. Nama itu dipakai untuk menyebut sekelompok mikroorganisme bersel satu, bersifat prokariotik yaitu tubuhnya terdiri atas sel yang tidak mempunyai pembungkus inti. Bakteri tersebar di tanah, air dan sebagai simbiosis dari organisme lain (Pramila, 2012). Bakteri memiliki ukuran tubuh yang sangat kecil, umumnya bentuk tubuh bakteri dapat dilihat dengan menggunakan mikroskop pembesaran 1000 kali. Satuan ukuran tubuh bakteri adalah mikrometer atau mikron. Satu mikron sama dengan 1/1.000 milimeter. Lebar tubuh umumnya antara 1 sampai 2 mikron sedangkan panjangnya antara 2-5 mikron (Yateem, 2002). Beberapa bentuk dasar bakteri yaitu bulat (*coccus*), batang atau silinder (*Bacillus*), dan spiral yaitu bentuk batang melengkung atau melingkar-lingkar (Pramila, 2012). Bentuk morfologi bakteri dapat dilihat pada Gambar 2.2



Gambar 2.2 Morfologi Sel Bakteri (Pramila, 2012).

Bakteri Gram Positif dan Gram Negatif

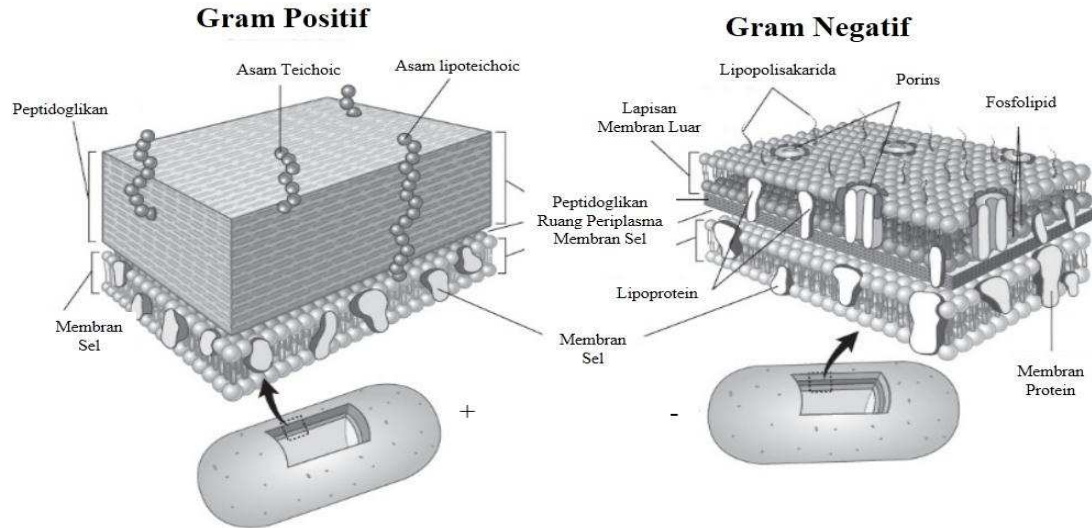
Dinding sel ditemukan pada semua bakteri hidup kecuali pada *Mycoplasma*. Dinding sel berfungsi untuk mempertahankan bentuk sel dan mencegah sel mengalami lisis (Canbolat, 2006). Dinding sel bakteri tersusun atas makromolekul peptidoglikan yang terdiri dari monomer-monomer tetrapeptidaglikan (polisakarida dan asam amino). Berdasarkan susunan kimia dinding selnya, bakteri dibedakan atas bakteri Gram positif dan bakteri Gram negatif.

Bakteri Gram positif memiliki peptidoglikan setebal 20-80 nm dengan komposisi terbesar *teichoic*, asam *teichuroni*, dan berbagai macam polisakarida. Asam teichoat berfungsi sebagai antigen permukaan pada Gram positif. Letaknya berada antara lapisan membran sitoplasma dan lapisan peptidoglikan (Milton, 2001). Selain itu bakteri Gram positif memiliki 40 lembar

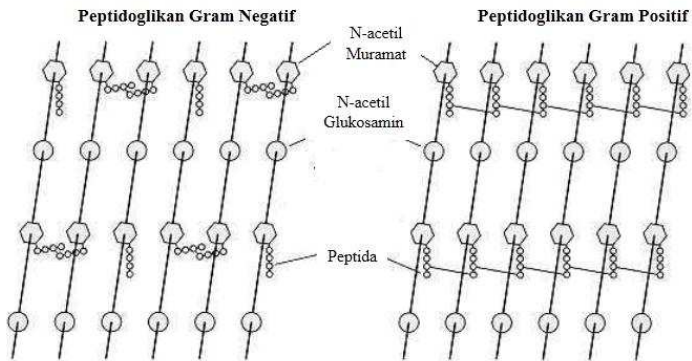
peptidoglikan pada dinding selnya, yang merupakan 50% dari seluruh komponen penyusun dinding sel. Polisakarida dan asam amino pada lembar peptidoglikan bersifat sangat polar.

Sedangkan pada bakteri Gram negatif memiliki lapisan peptidoglikan tipis (5-10 nm) dengan komposisi utama: lipoprotein, membran luar dan lipopolisakarida. Membran luar pada Gram negatif juga memiliki sifat hidrofilik, namun komponen lipid pada dinding selnya justru memberikan sifat hidrofobik (Benson, 2001). Selain itu terdapat saluran khusus yang terbuat dari protein yang disebut porins yang berfungsi sebagai tempat masuknya komponen hidrofilik seperti gula dan asam amino yang penting untuk kebutuhan nutrisi bakteri. Lipoprotein mengandung 57 asam amino yang merupakan ulangan sekuen 15 asam amino yang saling bertaut dengan ikatan peptida dengan residu asam diaminpimelat dari sisi tetrapeptida rantai peptidoglikan (Walstra, 2006). Lipoprotein merupakan komponen yang mendominasi dinding sel Gram negatif dan berfungsi menjaga stabilitas membran luar dan tempat perlekatan pada lapisan peptidoglikan. Membran luarnya merupakan struktur bilayer, komposisi lembar dalamnya mirip dengan membran sitoplasma, hanya saja fosfolipid pada lapisan luarnya diganti dengan molekul lipopolisakarida (LPS) (Gambar 2.3).

Peptidoglikan adalah polimer kompleks yang terdiri dari 3 bagian: *backbone*, yang terdiri dari N-asetilglukosamin dan asam N-asetilmuramat, secara berselang-seling yang dihubungkan oleh ikatan beta 1-4 glikosida; sekelompok rantai tetrapeptida identic yang melekat pada asam N-asetilmuramat; dan sekelompok *identical peptide-cross bridges*. *Backbone* pada semua bakteri adalah sama, namun rantai tetrapeptida dan *identical peptide-cross bridges* berbeda-beda (Hurrel, 2004). (Gambar 2.4).



Gambar 2.3 Perbandingan Struktur Dinding Sel Bakteri Gram Positif dan Gram Negatif (Freshney, 2005).



Gambar 2.4 Struktur Peptidoglikan Bakteri Gram Positif dan Bakteri Gram Negatif (Todar, 2001).

Perbedaan Bakteri Gram Positif dan Bakteri Gram Negatif dapat pula dilihat pada Tabel 2.3.

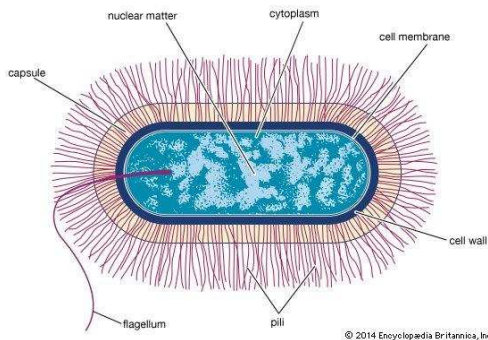
Tabel 2.3 Perbedaan Lapisan Dinding Sel Bakteri Gram Positif dan Bakteri Gram Negatif (Pelczar, 1986).

Karakteristik	Gram Positif	Gram Negatif
Struktur Dinding Sel	Tebal (15-80 nm), Berlapis tunggal	Tipis (10-15 nm), berlapis tiga
Pertumbuhan dihambat oleh zat-zat warna dasar, misalnya ungu kristal	Pertumbuhan dihambat	Pertumbuhan tidak begitu dihambat
Resistensi	Lebih rentan	Kurang rentan

Bacillus sp.

Bacillus sp. memiliki bentuk batang, gram positif, motil, membentuk spora yang tahan panas, anaerob fakultatif, katalase positif dan oksidasi bervariasi (Evans, 2000). Sebagian besar *Bacillus* sp. merupakan bakteri mesofil yang tumbuh dengan suhu optimal antara 30-40°C, meskipun ada beberapa yang termasuk golongan termofil dengan suhu optimal pada suhu 65°C (Ynte, 2004). *Bacillus* sp. memiliki sifat pertumbuhan yang berbeda-beda, diantaranya ada yang bersifat mesofilik seperti *B. subtilis* dan *B. cereus*. Bakteri ini termasuk ke dalam kelompok gram positif yang menghasilkan spora yang terletak ditengah-tengah sel serta memiliki flagel *peritrikus* (Ichida, 2011).

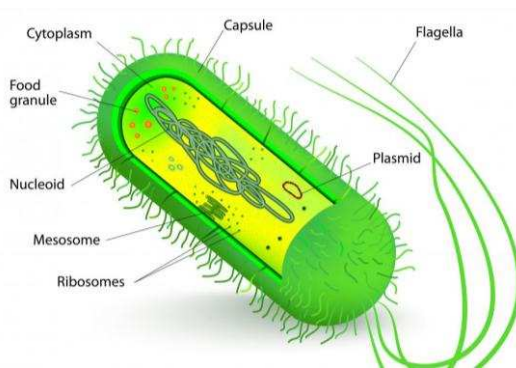
Salah satu contoh spesies pada bakteri *Bacillus* sp. yaitu *Bacillus thuringiensis* yang merupakan bakteri tanah gram positif bersifat mesofilik, aerobik, memiliki flagel peritrikus, pembentuk spora yang memiliki dinding tebal, sehingga sangat resisten terhadap kondisi fisik yang kurang menguntungkan. Bakteri ini juga dapat membentuk kristal protein diluar spora didalam sel bakteri, yang bersifat toksin terhadap serangga koleoptera (Canbolat, 2006). Morfologi sel bakteri *Bacillus* sp. dapat dilihat pada Gambar 2.5.



Gambar 2.5 Morfologi Sel *Bacillus* sp. (Ichida, 2011).

Pseudomonas sp.

Karakteristik genus ini terdiri dari batang Gram-negatif, katalase positif, motil dan banyak dijumpai (biasanya di air dan tanah). *Pseudomonas aeruginosa* merupakan spesies yang paling sering ditemukan. *P.aeruginosa* memiliki bau mirip anggur yang khas dan menghasilkan pigmen piosianin (Pramila, 2012). *P.aeruginosa* merupakan bakteri gram negatif yang berbentuk batang, tidak berspora, berflagel, dan katalase positif. *P.aeruginosa* bersifat aerobik obligat yang tumbuh dengan cepat pada berbagai media, pada media padat dan cair bakteri ini dapat terbentuk warna hijau (Yateem, 2002). *P.aeruginosa* membentuk koloni bulat, halus dengan warna fluoresen kehijauan memproduksi pigmen kebiruan dan tidak fluoresen yang disebut piosianin yang larut dalam agar (Pramila, 2012). Morfologi sel bakteri *Pseudomonas* sp. dapat dilihat pada Gambar 2.6.



Gambar 2.6 Morfologi Sel *Pseudomonas* sp. (Yateem, 2002).

2.6 Metode Perhitungan Bakteri

Mikroba tidak dapat dilihat secara kasat mata. Oleh karena itu, untuk melihat mikroorganisme diperlukan alat bantu berupa mikroskop (Ardiyanto, 2004). Penentuan jumlah angka mikroorganisme sangat penting dilakukan untuk menetapkan keamanan suatu sediaan farmasi dan makanan

(Backman, 1994). Berbagai metode telah dikembangkan untuk menghitung jumlah mikroorganisme. Menghitung jumlah populasi mikroorganisme dapat ditentukan dengan beberapa cara yaitu perhitungan langsung, pengukuran langsung, perhitungan tidak langsung, dan perkiraan tidak langsung (Brosnan, 2000).

Perhitungan langsung (*direct count*) digunakan untuk menghitung jumlah sel atau biomassa mikroorganisme dengan cara sel dihitung langsung di bawah mikroskop atau dengan perhitungan partikel elektronik (*electronic particle counter*) (Corry, 2003). Pengukuran langsung (*direct measurement*) digunakan untuk menghitung biomassa mikroorganisme dengan cara massa sel dapat ditentukan dengan menimbang atau mengukur berat seluruh sel serta biomassa dapat dikorelasikan dengan jumlah sel dan membandingkannya pada kurva standar (Kennedy, 2005).

Perhitungan tidak langsung (*indirect count*) digunakan untuk menghitung jumlah sel yang ada pada sampel dengan cara memperkirakan jumlah mikroorganisme dalam sampel yang telah dikonsentrasikan dan ditanam pada media yang sesuai, contohnya pembentukan koloni dalam plat agar (Hurrel, 2004). Perkiraan tidak langsung (*indirect estimate*) digunakan untuk biomassa mikroorganisme. Biomassa mikroorganisme diperkirakan dengan cara mengukur komponen biokimia sel mikroorganisme yang relatif konstan, seperti protein, adenosin trifosfat (ATP), lipopolisakarida (LPS), murein, dan klorofil. Biomassa juga dapat diperkirakan secara tidak langsung dengan mengukur kekeruhan. Perkiraan tidak langsung biomassa mikroorganisme dapat dikorelasikan dengan jumlah sel dengan membandingkannya pada kurva standar (Kennedy, 2005).

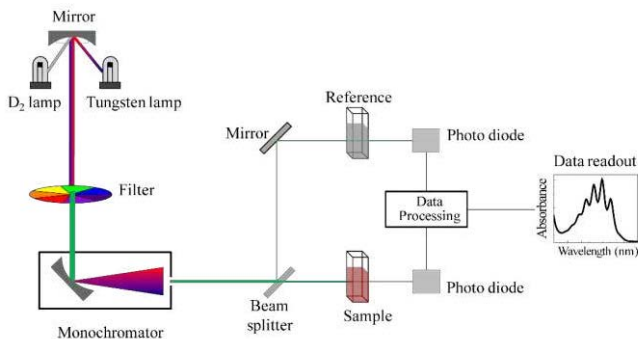
Turbidimetri

Turbidimetri merupakan metode yang cepat untuk menghitung jumlah bakteri dalam suatu larutan menggunakan spektrofotometer. Bakteri menyerap cahaya sebanding dengan volume total sel (ditentukan oleh ukuran dan jumlah). Ketika

mikroba bertambah jumlahnya atau semakin besar ukurannya dalam biakan cair, terjadi peningkatan kekeruhan dalam biakan. Kekeruhan dapat disebut optical density (absorpsi cahaya, biasanya diukur pada panjang gelombang 520 nm – 700 nm). Kurva standar dapat memperlihatkan jumlah organisme/ml (ditentukan dengan metode hitungan cawan) hingga pengukuran optical density (ditentukan dengan spektrofotometer) (Lestienne, 2005).

Spektrofotometer

Alat yang umum digunakan untuk mengukur nilai kekeruhan suspensi sel yaitu spektrofotometer. Sel bakteri umumnya dihitung dengan panjang gelombang 600 nm (Lestienne, 2005). Skema kerja spektrofotometer dapat dilihat pada Gambar 2.7.



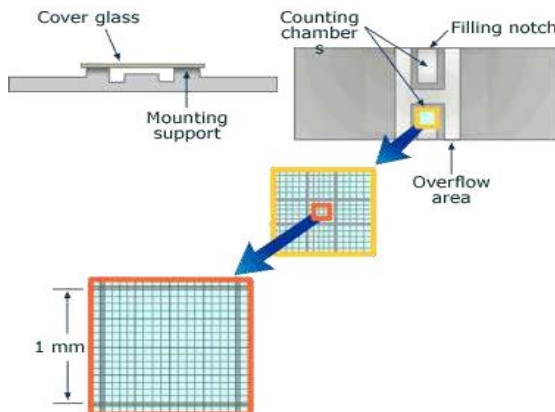
Gambar 2.7 Skema Kerja Spektrofotometer UV-Vis (Lestienne, 2005).

Haemocytometer

Haemocytometer merupakan alat yang berfungsi untuk menghitung sel, antara lain mikroorganisme dan sel darah, yang berukuran mikroskopis. *Haemocytometer* ditemukan oleh Louis-Charles Malassez yang pada awalnya terdiri dari sebuah lapisan kaca tebal dengan lekukan persegi panjang dan terdapat ruang-

ruang kamar. Ruangan tersebut diukir dengan laser *grid* yang menggores garis secara tegak lurus (Lestienne, 2005). *Haemocytometer* dapat menghitung jumlah sel atau partikel dalam suatu volume cairan tertentu, sehingga dapat diketahui konsentrasi sel dalam cairan secara keseluruhan. Ruang hitung terdiri dari 9 kotak besar dengan luas 1 mm^2 . Menurut Freshney (2005) sel bakteri yang tersuspensi akan memenuhi volume ruang hitung sehingga didapatkan rumus perhitungan ruang R sebagai berikut:

Alat Haemocytometer dapat dilihat pada Gambar 2.8.

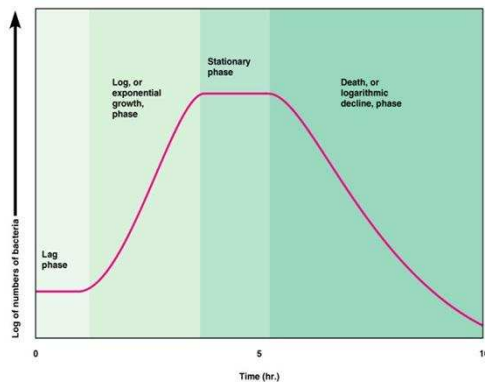


Gambar 2.8 *Haemocytometer* (Martin, 2007).

Selain cahaya, faktor perbesaran mikroskop juga berpengaruh (Hurrel, 2004). *Haemocytometer* memiliki kelemahan dan kelebihan pada proses penghitungan bakteri secara langsung. Kelebihannya antara lain ialah cepat dalam menghasilkan data sehingga tidak perlu menunggu lama dalam menghitung kepadatan sel, serta dapat mengamati morfologi sel, mengevaluasi homogenitas, dan dapat mendeteksi kontaminan. Sedangkan kelemahannya ialah tidak dapat membedakan antara sel yang mati dengan yang hidup apabila tidak menggunakan suatu larutan pewarna untuk membedakannya (Hurrel, 2004).

2.7 Kurva Pertumbuhan

Tipe pertumbuhan bakteri tidak berlangsung dalam periode waktu yang kontinyu, namun dipengaruhi oleh lingkungan dan nutrisi yang terkandung di dalamnya. Kekurangan nutrisi menyebabkan berhentinya pertumbuhan bakteri. Pertumbuhan bakteri dapat digambarkan dalam kurva pertumbuhan seperti pada Gambar 2.9.



Gambar 2.9. Kurva Pertumbuhan Bakteri (Peddie, 1999).

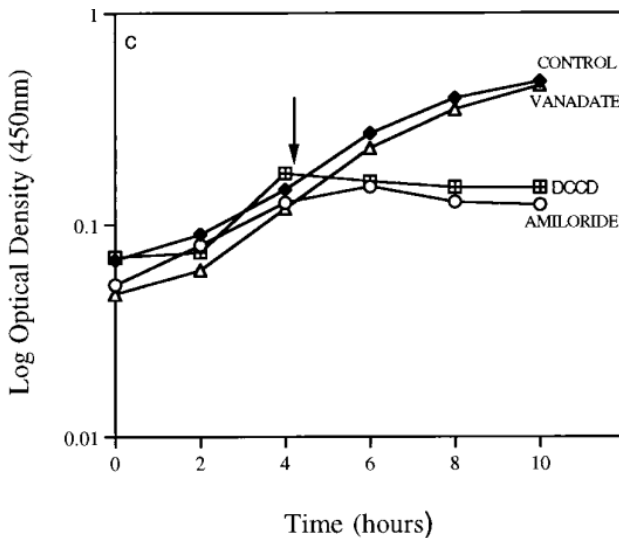
Fase lag merupakan waktu yang dibutuhkan mikrobia untuk tumbuh beradaptasi di dalam medium baru. Pada fase lag terjadi penambahan massa dan volume sel mikrobia. Panjang atau

pendeknya interval fase lag tergantung pada jenis inokulum mikrobial, medium yang sedikit nutrisi dan kondisi pertumbuhan mikrobial saat diinokulasikan (Prescott, 1999).

- a. Pada fase eksponensial, populasi mikrobial mengalami pembelahan paling tinggi dan konstan dalam waktu generasi yang pendek. Waktu generasi mikrobial merupakan waktu yang dibutuhkan sel mikrobial untuk membelah menjadi 2 sel. Setiap sel mikrobial akan membelah 2x lipat sehingga peningkatan jumlah populasi selalu 2^n , n adalah jumlah generasi. Pertambahan jumlah sel dalam populasi disebut sebagai pertumbuhan mikrobial.
- b. Pada fase stasioner, pembelahan sel yang terjadi sangat lambat. Jumlah pembelahan sel dengan sel yang mati seimbang, sehingga jumlah sel relatif konstan (pertumbuhan 0). Pada fase ini, sel mikroba tetap aktif melakukan metabolisme energi dan proses biosintesis lainnya. Metabolit sekunder banyak dihasilkan mikrobial pada fase ini. Fase stasioner terjadi karena beberapa alasan yaitu: Terbatasnya nutrisi esensial dalam kultur yang mulai berkurang, kurangnya ketersediaan O_2 dalam medium mulai berkurang untuk organisme aerobik, dan banyaknya sisa metabolisme yang tertimbun dalam medium kultur sehingga pertumbuhan mikroba terhambat (Madigan, 1991).
- c. Fase kematian terjadi jika terjadi perubahan lingkungan menjadi tidak menguntungkan, seperti berkurangnya nutrisi esensial dalam medium dan meningkatnya akumulasi zat toksik dalam medium. Grafik fase kematian seperti grafik fase eksponensial yaitu logaritmik (kematian sel tiap jam adalah konstan). Sel mikrobial yang mati akan mengalami lisis (Prescott, 1999).

Penelitian Peddie *et al.* (1999) tentang pertumbuhan bakteri *Bacillus* sp. yang ditumbuhkan pada medium MSM dengan penambahan glutamat sebanyak 2g/L bahwa *Bacillus* strain TA2.A1. dapat tumbuh dengan cepat karena menggunakan glutamat sebagai sumber karbon dan energi. Kecepatan rata-rata

pertumbuhan bakteri mencapai 0,35 per jam (data tidak ditunjukkan). Selain glutamat, bakteri ini juga membutuhkan sodium untuk pertumbuhannya untuk energi dalam melakukan pembelahan diri dan proses bioenergi. Penggunaan glutamat oleh bakteri dipengaruhi oleh konsentrasi sodium. Konsentrasi sodium yang semakin tinggi yaitu berkisar 5mm-100mm di dalam medium pertumbuhan dapat meningkatkan kepadatan sel bakteri sedangkan konsentrasi lebih dari 100mm dapat menghambat pertumbuhan sel bakteri. Kurva pertumbuhan *Bacillus* strain TA2.A1. Medium MSM yang tambahkan glutamat dengan konsentrasi 2 g/L ditunjukkan pada Gambar 2.10



Gambar 2.10. Kurva Pertumbuhan *Bacillus* Strain TA2.A1. pada MSM dengan Penambahan Glutamat (Peddie, 1999).

BAB III METODOLOGI

3.1 Waktu dan Lokasi Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi dan Bioteknologi Jurusan Biologi FMIPA ITS Surabaya pada bulan Februari sampai dengan Mei 2016.

3.2 Isolat yang Digunakan

Secara umum metodologi yang digunakan dapat digambarkan seperti dalam lampiran 2. Isolat yang digunakan berasal dari penelitian degradasi plastik menggunakan kolom Winogradsky (Sriningsih, 2015) dan merupakan koleksi Laboratorium Mikrobiologi dan Bioteknologi. Isolat tersebut adalah *Bacillus* PL01 dan *Pseudomonas* PL01.

3.2.1 Purifikasi dan Rekonfirmasi Bakteri Uji

Sumber isolat adalah inokulum yang ada di tabung Winogradsky penelitian Sriningsih (2015). Pemurnian isolat bakteri uji diawali dengan pembuatan medium *Nutrient Agar* (NA) (lampiran 1) pada cawan Petri. Isolasi bakteri diambil dari 3 titik berbeda yaitu pada area kolom, biofilm, dan pasir. Sampel diambil sebanyak 1mL pada area kolom dan dituang pada cawan Petri dengan metode *spread* (metode sebar). Selanjutnya sampel pada area biofilm diambil dengan cara memasukkan plastik ke dalam botol falkon yang berisi 10 mL akuades steril. Sementara itu sampel pada area pasir diambil dengan cara memasukkan pasir ke dalam botol falkon yang berisi 10 mL akuades steril. Sampel pada area biofilm dan pasir disentrifugasi selama 30 menit dengan kecepatan 2500 rpm. Supernatant hasil sentrifugasi diambil sebanyak 1mL dan dituang dengan metode *spread* pada cawan Petri, selanjutnya dimasukkan ke dalam inkubator suhu 37°C selama 24 jam hingga didapatkan koloni tunggal (Nishijima, 2005).

Koloni tunggal yang terbentuk pada biakan bakteri umur 24 jam diinokulasikan pada cawan Petri dengan metode *16 streak*. Hasil koloni tunggal direkonfirmasi karakteristiknya secara makroskopis dan biokimia berdasarkan *Bergey's Manual of Determinative Bacteria* untuk memastikan bahwa isolat tersebut merupakan bakteri *Bacillus* dan *Pseudomonas*. Karakter fenotip isolat bakteri yang diuji meliputi pewarnaan sederhana, pewarnaan Gram, uji endospora, uji motilitas, dan aktivitas katalase (Harley dan Prescott, 2002).

Pewarnaan Sederhana

Bakteri isolat uji diambil sebanyak 1 ose, kemudian digoreskan di atas kaca objek yang telah diberi akuades sebelumnya. Preparat difiksasi di atas bunsen. Selanjutnya preparat ditetesi dengan *methylene blue* sebanyak 1-2 tetes, lalu didiamkan selama 30 detik. Preparat dibilas dengan akuades dan didiamkan hingga kering. Preparat ditutup dengan kaca penutup dan diberi tambahan minyak imersi sebanyak 1 tetes pada bagian atas kaca penutup. Setelah itu preparat diamati dengan mikroskop perbesaran 1000 kali (Harley dan Prescott, 2002).

Pewarnaan Gram

Isolat bakteri uji diambil sebanyak 1 ose, kemudian digoreskan di atas kaca objek yang telah diberi akuades sebelumnya. Preparat difiksasi di atas Bunsen, lalu ditetesi larutan kristal violet sebanyak 2-3 tetes. Preparat didiamkan selama 30 detik lalu dibilas dengan akuades. Preparat ditetesi larutan Gram's iodine sebanyak 2-3 tetes dan didiamkan selama 1 menit. Selanjutnya preparat dibilas kembali dengan akuades. Preparat didekolorisasi dengan menggunakan etil alkohol 95% setetes demi setetes selama 15 detik kemudian dibilas kembali dengan akuades dan didiamkan hingga kering. Preparat ditetesi safranin selama ± 1 menit dan dibilas kembali dengan akuades. Kemudian preparat didiamkan hingga kering. Preparat ditutup dengan kaca penutup dan diberi tambahan minyak imersi sebanyak 1 tetes

pada bagian atas kaca penutup. Setelah itu preparat diamati dengan mikroskop perbesaran 1000 kali (Harley dan Prescott, 2002).

Pewarnaan Endospora

Bakteri isolat uji diambil sebanyak 1 ose, kemudian digoreskan di atas kaca objek yang telah diberi akuades sebelumnya. Preparat difiksasi di atas bunsen. Selanjutnya bagian atas preparat ditutup tisu lalu ditetesi dengan *malachite green* hingga menutupi seluruh permukaan kaca objek. Preparat dipanaskan selama 3-4 menit di atas bunsen dengan bantuan kasa pemanas. Selanjutnya tisu pada preparat dibuang dan dibilas dengan akuades. Preparat diwarnai dengan safranin selama ± 1 menit dan dibilas kembali dengan akuades. Preparat ditutup dengan kaca penutup dan diberi tambahan minyak imersi sebanyak 1 tetes pada bagian atas kaca penutup. Preparat diamati dengan mikroskop perbesaran 1000 kali (Harley dan Prescott, 2002).

Uji Katalase

Gelas objek yang telah dibersihkan dengan alkohol 70% ditetesi dengan larutan H_2O_2 (Hidrogen Peroksida) 3% sebanyak 1 tetes. Isolat diambil sebanyak 1 ose lalu digoreskan secara aseptis pada kaca objek. Isolat dihomogenkan secara manual dan diamati hasilnya. Hasil positif ditandai dengan timbulnya gas atau gelembung udara di sekitar goresan isolat bakteri (Harley dan Prescott, 2002).

Uji Motilitas

Inokulasi bakteri pada media TSIA (Lampiran 1) dilakukan secara aseptis dengan menusukkan jarum ose steril yang mengandung isolat bakteri secara lurus kedalam tabung reaksi tanpa menyentuh dinding tabung. Media yang telah diinokulasi bakteri selanjutnya diinkubasi selama 24 jam dan diamati pola pergerakan bakteri (Harley dan Prescott, 2002).

Hasil dari rekonfirmasi bakteri uji didapatkan isolat bakteri uji yang diberi nama *Bacillus* PL01 dan *Pseudomonas* PL01.

3.2.2. Pembuatan starter

Pembuatan starter dilakukan pada medium cair *Nutrient Broth* (NB) dengan menggunakan metode pengenceran bertingkat. Langkah pertama sebanyak 1 ose isolat murni hasil subkultur pada medium padat yang telah direkonfirmasi dimasukkan pada 10 mL medium NB, kemudian diinkubasi selama 24 jam. Selanjutnya sebanyak 5 mL dari 10 mL medium NB dimasukkan pada 45 mL medium NB baru. Selanjutnya sebanyak 15 mL dari 50 mL medium NB dimasukkan pada 135 mL medium NB baru. Kultur pada 150 mL NB ini digunakan sebagai starter pada perlakuan selanjutnya. Starter yang digunakan untuk uji adalah 10% dari total medium dengan kepadatan sel 10^6 sel/ml yang dihitung menggunakan *Haemocytometer*. Sampel uji diambil sebanyak 1-2 tetes dan diletakkan di atas *Haemocytometer*. Preparat diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran 1000 kali (Martin, 2007).

3.2.3. Optimasi Pengukuran Kurva Pertumbuhan

2 gr/L MSG

Optimasi pengukuran kurva pertumbuhan dilakukan dengan beberapa tahapan. Tahap pertama yaitu membuat *Mineral Salt Medium* (MSM) (Lampiran 1) sebanyak 350 ml dengan penambahan MSG sebanyak 2 g/L. Sebanyak 315 mL MSM 2 gr/L MSG dimasukkan ke dalam Erlenmeyer 500 mL kemudian ditambahkan 10% (35 mL) starter bakteri uji sehingga total medium kultur adalah 350 mL dan diinkubasi pada suhu ruang di atas *shaker* 250 rpm menggunakan *Rotary Shaker*. Pada interval waktu:

- a) Setiap 24 jam sekali selama 4 hari
- b) Setiap 48 jam sekali selama 4 hari
- c) Setiap 72 jam sekali selama 4 hari

pertumbuhan sel diamati berdasarkan kekeruhan kultur sel. Sebanyak 2 mL sampel uji dimasukkan ke dalam kuvet dan diukur nilai absorbansinya pada spektrofotometer dengan panjang gelombang 600nm. Pengukuran dilakukan dengan 2 kali ulangan pada setiap kultur sel dan setiap interval waktu.

1 gr/L MSG

Pembuatan MSM untuk serial MSG 1 g/L dilakukan dengan cara yang sama seperti pembuatan MSM untuk serial MSG 2 g/L. Namun jumlah MSM yang digunakan sebanyak 215 mL dengan penambahan starter bakteri uji sebanyak 10% (25 mL) sehingga total medium kultur adalah 250 mL. Pada perlakuan 1 g/L MSG disediakan kontrol yaitu MSM tanpa MSG. Selanjutnya inokulum diinkubasi pada suhu ruang di atas *shaker* 250 rpm menggunakan *Rotary Shaker*. Pertumbuhan sel bakteri uji diamati berdasarkan OD dengan mengukur nilai absorbansi menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 600nm. Pengukuran pertumbuhan sel bakteri dilakukan setiap 4 jam sekali selama 24 jam dan dilakukan sebanyak 2 kali ulangan pada tiap perlakuan.

3.2.4. Pengukuran Kurva Pertumbuhan Uji

MSM dibuat dengan variasi kandungan MSG yaitu 0 g/L ; 0,5 g/L ; 1 g/L ; 1,5 g/L ; dan 2 g/L (Tabel 3.1.).

Tabel 3.1 Konsentrasi MSG pada MSM

MSG	MSG (gr/L)	Nama Medium Modifikasi
MSG	0	0 gr/L MSG
MSG	0,5	0,5 gr/L MSG
MSG	1	1 gr/L MSG
MSG	1,5	1,5 gr/L MSG
MSG	2	2 gr/L MSG

Selanjutnya sebanyak 315 mL MSM termodifikasi masing-masing dimasukkan ke dalam Erlenmeyer 500 ml dan ditambahkan 10% (35 mL) starter bakteri uji sehingga total

medium kultur pada tiap serial MSG adalah 350 mL. Inokulum bakteri uji pada MSM diinkubasi pada suhu ruang di atas *shaker* 250 rpm menggunakan *Rotary Shaker*. Setiap 1 jam sekali selama 48 jam perhitungan sel diukur berdasarkan kekeruhannya pada OD 600 nm. Pengukuran sel dilakukan dengan cara yang sama seperti pada tahap 3.2.3. Kontrol pendukung perlakuan adalah bakteri uji yang dikultur pada medium *Lactose Broth* (LB) (Lampiran 1).

Selain berdasarkan kekeruhan sel, pertumbuhan sel juga diamati dengan perhitungan jumlah sel menggunakan *Haemocytometer*. Sampel uji sebelumnya difiksasi dengan ditambahkan larutan formalin 0,5% sebanyak 1 tetes dalam 10 mL kultur. Perlakuan ini dilakukan untuk menghambat pertumbuhan bakteri uji selama perhitungan *Haemocytometer* (Bezkorovainy, 2001). Sampel uji diambil sebanyak 1-2 tetes dan diletakkan di atas *Haemocytometer*. Preparat diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran 1000 kali. Sel bakteri yang telah dihitung jumlah sel nya dicatat dan dihitung kepadatan nya dengan menggunakan rumus :

$$\text{Concentration (cells/mL)} = \frac{\text{Total cells counted} \times 10^4 \times \text{dilution factor}}{\text{Total square}} \times 25$$

(Freshney, 2005).

Pengukuran OD dan *Haemocytometer* dilakukan sebanyak 3 kali ulangan pada kultur tiap serial MSG perlakuan.

3.2.5. Pengukuran Diameter Sel

Pengukuran diameter sel dilakukan pada jam ke-16 masa inkubasi. Inokulum yang berusia 16 jam, diambil 1-2 tetes menggunakan ose dan diletakkan pada kaca objek. Preparat difiksasi, selanjutnya dilakukan pewarnaan sederhana menggunakan *Methylen Blue*. Preparat diamati menggunakan mikroskop opti lab untuk mengetahui ukuran selnya. Pengukuran diameter sel meliputi pengukuran panjang dan lebar sel.

Pengukuran sel dilakukan sebanyak 3 kali ulangan pada kultur tiap konsentrasi MSG perlakuan.

3.3 Rancangan Penelitian dan Analisis Data

Penelitian dilakukan secara deskriptif kualitatif untuk mengetahui pengaruh MSG terhadap pertumbuhan isolat uji, dan deskriptif kuantitatif untuk mengetahui konsentrasi MSG yang optimal terhadap pertumbuhan isolat uji. Data pembuktian bahwa MSG komersial sebagai sumber nitrogen bagi bakteri *Bacillus* PL01 dan *Pseudomonas* PL01 yang diperoleh dari tiap perlakuan dianalisis dengan *Analysis of Variance* (ANOVA) *One Way* untuk mengetahui pengaruh MSG komersial sebagai sumber nitrogen terhadap pertumbuhan bakteri dengan hipotesa:

Ho : Perbedaan konsentrasi MSG tidak berpengaruh terhadap pertumbuhan bakteri

H1 : Perbedaan konsentrasi MSG berpengaruh terhadap pertumbuhan bakteri

Dengan pengambilan Keputusan :

a) Jika signifikan > 0.05 maka H0 diterima

b) Jika signifikan < 0.05 maka H0 ditolak

Jika H1 diterima maka analisis dilanjutkan dengan uji Tukey pada tahap kepercayaan 95%

(Prawirohardjono, 2000).

Uji pengaruh MSG komersial bagi pertumbuhan bakteri isolat *Bacillus* PL01 atau *Pseudomonas* PL01 dideteksi dari hasil pengukuran OD.

“Halaman ini sengaja dikosongkan”

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil Rekonfirmasi *Bacillus* dan *Pseudomonas*

Uji rekonfirmasi dilakukan untuk memastikan bahwa isolat uji adalah *Bacillus* PL01 dan *Pseudomonas* PL01. Hasil rekonfirmasi *Bacillus* PL01 dan *Pseudomonas* PL01 ditunjukkan pada Tabel 4.1.

Tabel 4.1 Hasil Uji Rekonfirmasi *Bacillus* PL01 dan *Pseudomonas* PL01

Karakterisasi*	Bakteri	
	<i>Bacillus</i> PL01	<i>Pseudomonas</i> PL01
Berbentuk Batang	+	+
Gram Positif	+	-
Motilitas	+	+
Katalase Positif	+	+
Endospora	+	-

(*Holt *et al*, 1994).

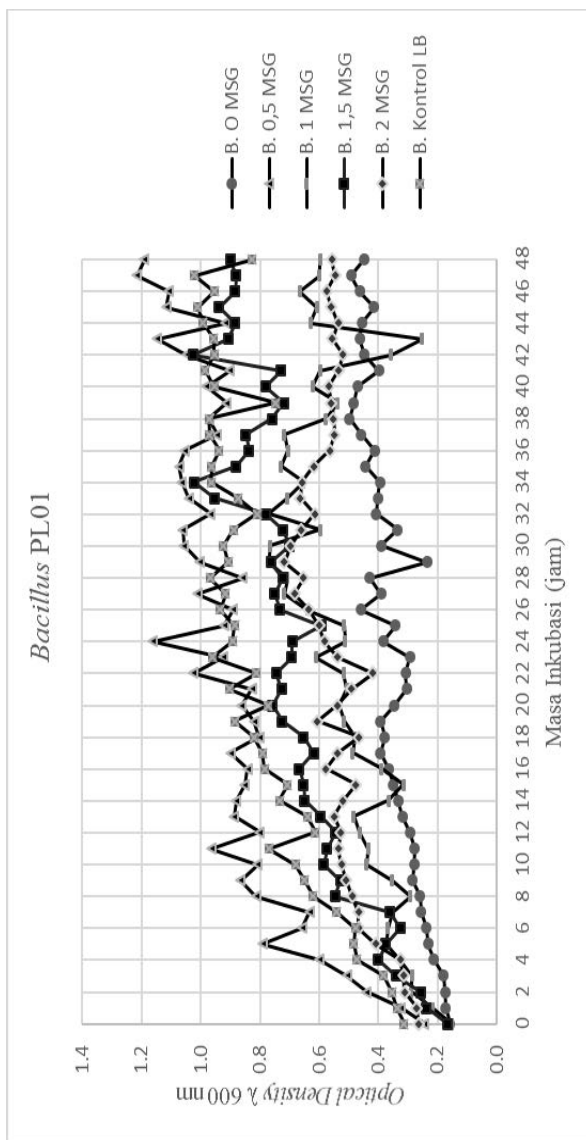
Bakteri Gram positif ditandai dengan perubahan warna menjadi ungu setelah pewarnaan Gram (Harisha, 2006). Sekitar 60-90% dinding sel bakteri Gram positif terdiri dari peptidoglikan. Bakteri Gram negatif mempunyai dinding sel terdiri dari dua lapisan yaitu: lapisan luar yang tersusun dari lipopolisakarida dan protein, serta lapisan dalam yang tersusun dari peptidoglikan tetapi lebih tipis dari bakteri Gram positif (Timotius, 1982). *Bacillus* PL01 membentuk endospora yang ditandai dengan sel bakteri yang berwarna hijau. Endospora mengandung *dipicolinic acid* (DPA) sebagai bentuk resistensi bakteri tersebut terhadap paparan panas (Prescott *et al*, 2008). Secara umum genus *Bacillus* bersifat motil karena memiliki

peritrichous flagella (Berber, 2004). Pada uji katalase, katalase positif menandakan adanya enzim katalase saat proses interaksi dengan H_2O_2 ditandai dengan munculnya gelembung (Harley dan Prescott, 2002). Enzim katalase berfungsi untuk mengkatalis kandungan H_2O_2 melalui dua mekanisme kerja yaitu katalitik dan peroksidatik. Enzim katalase bersifat antioksidan ditemukan pada hampir sebagian besar sel (Kohen dan Nyska, 2002).

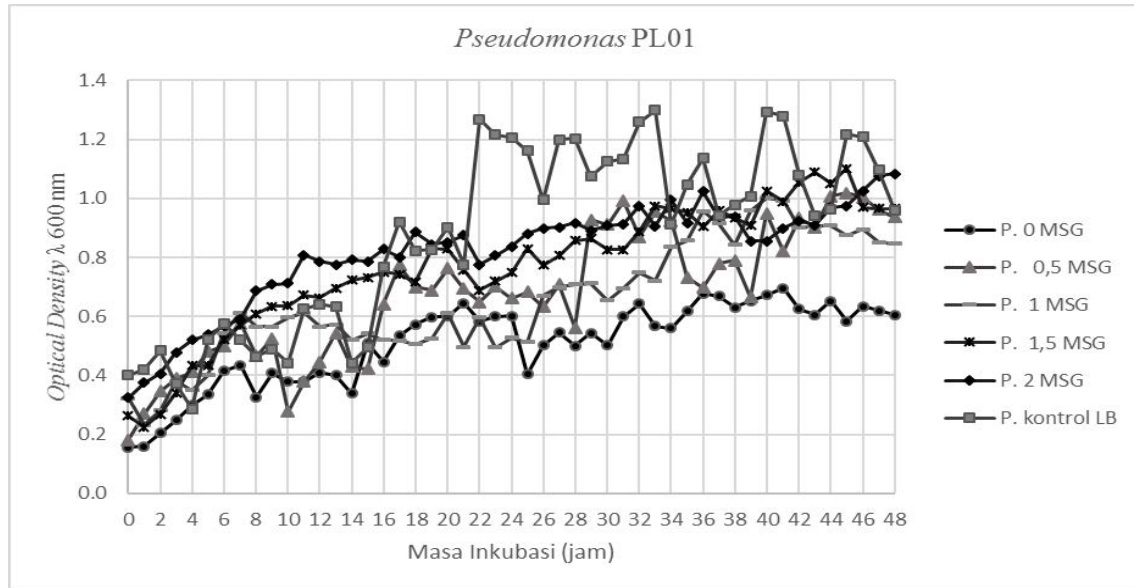
4.2 Pengaruh MSG Terhadap *Bacillus* PL01 dan *Pseudomonas* PL01

Pertumbuhan mikroorganisme dapat ditandai dengan peningkatan jumlah dan massa sel, dimana kecepatan pertumbuhan tergantung pada lingkungan fisik dan kimianya (Pelczar, 1986). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh Monosodium Glutamat (MSG) terhadap pertumbuhan isolat *Bacillus* PL01 dan *Pseudomonas* PL01 selama 48 jam masa inkubasi. Konsentrasi MSG yang digunakan yaitu 0 MSG ; 0,5 MSG ; 1 MSG ; 1,5 MSG ; 2 MSG. Pada penelitian ini digunakan Minimal Medium (MSM) agar pengaruh penambahan MSG dapat diketahui sebagai sumber nutrisi alternatif. MSM merupakan medium yang hanya terdiri dari garam-garam mineral anorganik dan tidak terdapat sumber karbon (Deacon, 2003). MSG merupakan hasil purifikasi glutamat atau gabungan dari beberapa asam amino dengan sejumlah kecil peptida melalui proses hidrolisa protein (*Hydrolized Vegetable Protein/HVP*) (Santoso, 2008). MSG dapat dimanfaatkan sebagai sumber nitrogen bagi pertumbuhan bakteri. Sebagai kontrol digunakan medium *Lactose Broth* (LB). Penentuan kurva pertumbuhan dilakukan dengan mengukur OD (*Optical Density*) menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 600nm dan menghitung jumlah sel bakteri menggunakan *Haemocytometer* pada perbesaran 1000x.

A



B



Gambar 4.1 Kurva Pertumbuhan (A) *Bacillus* PL01 (B) *Pseudomonas* PL01.

Secara umum (Gambar 4.1) terlihat bahwa MSM dapat mendukung pertumbuhan kedua isolat uji. Pada 0 gr/L MSG kedua isolat uji masih membutuhkan fase adaptasi sebelum masuk ke fase log. Namun ketika MSM ditambah MSG, kedua isolat uji dapat langsung masuk ke fase log atau eksponensial. Hal ini menunjukkan bahwa MSG mampu menjadi sumber energi bagi isolat uji. Kurva pertumbuhan isolat *Bacillus* PL01 memiliki pola pertumbuhan yang berbeda dengan isolat *Pseudomonas* PL01, yang menunjukkan penambahan MSG pada MSM memberikan pengaruh yang berbeda terhadap kedua isolat uji tersebut.

Menurut Pelczar (1986), pertumbuhan mikroorganisme terbagi atas 4 fase, yang dimulai dari fase lag atau fase adaptasi. Ciri-ciri fase ini adalah tidak ada pertumbuhan populasi, sel mengalami perubahan dalam komposisi kimiawi, ukuran sel bertambah, dan bertambahnya substansi intraseluler. Setelah fase lag, bakteri akan memasuki fase eksponensial, pada fase ini sel membelah dengan laju yang konstan, massa menjadi dua kali lipat dengan laju yang sama, aktivitas metabolik serta pertumbuhan seimbang. Pertumbuhan seimbang ditandai dengan bertambahnya populasi secara teratur. Pertumbuhan bakteri selanjutnya, yaitu fase stasioner. Fase ini ditandai habisnya nutrisi yang dibutuhkan bakteri dalam pertumbuhannya. Pada fase ini senyawa atau produk racun diproduksi dan menyebabkan beberapa sel bakteri mati sehingga jumlah sel yang hidup menjadi tetap. Fase selanjutnya yaitu fase kematian atau penurunan pertumbuhan yang ditandai dengan jumlah sel bakteri yang mati lebih banyak dibandingkan terbentuknya sel baru.

Pengaruh MSG secara umum dapat pula dilihat dari sudut jarak antar kurva untuk setiap penambahan MSG (Gambar 4.1). Pada pertumbuhan *Bacillus* PL01 terlihat ada perbedaan jarak yang cukup jauh. Hal ini menunjukkan bahwa konsentrasi MSG memberikan pengaruh besar untuk pertumbuhan *Bacillus* PL01. Sedangkan pada *Pseudomonas* PL01, jarak antar kurva relatif berdekatan. Hal ini diasumsikan bahwa pengaruh penambahan

MSG pada *Pseudomonas* PL01 di tiap konsentrasi tidak terlalu besar. Hal ini mungkin dapat dikaitkan dengan perbedaan Gram antara kedua isolat uji yang berhubungan dengan komposisi lapisan dinding sel. Menurut Madigan *et al.* (2012), *Bacillus* merupakan bakteri Gram positif yang lapisan dinding selnya terdiri dari lipopolisakarida dan peptidoglikan. Lipopolisakarida berasal dari dua gula *N-acetylglucosamine* dan *N-acetylmuramic acid*, beberapa asam amino, dan *diaminopimelic acid* (DAP). Sedangkan pada *Pseudomonas* PL01 memiliki lapisan peptidoglikan yang lebih tipis (Gambar 2.3 dan Gambar 2.4)

Secara umum mekanisme penyerapan nutrisi pada membran sel dapat melalui proses transpor aktif. Transpor aktif sangat diperlukan untuk memelihara keseimbangan molekul-molekul di dalam sel. Sumber energi untuk transpor aktif adalah ATP (*Adenosin Trifosfat*) (Berber, 2004). Pada transpor aktif diperlukan energi dari dalam sel untuk melawan gradien konsentrasi (Hipotonis->Hipertonis). Transport aktif dapat terjadi melalui dua mekanisme:

- Protein transport dalam membran plasma memindahkan zat terlarut seperti ion-ion kecil (Na^+ , K^+ , Cl^- , H^+), asam amino, dan monosakarida
- Vesikula atau badan-badan lain dalam sitoplasma memindahkan molekul-molekul makro atau partikel-partikel besar melewati membran plasma.

(Berg, 2007).

Contoh dari transpor aktif adalah transpor asam amino dan glukosa melewati membran plasma dengan suatu protein khusus. Pada glukosa, disebut sebagai *GLUT-4* (*Glucose Transporter 4*). Pengangkutan tersebut terjadi seiring dengan difusi molekul ion Na^+ (Vincent, 2004).

Endositosis merupakan proses masuknya partikel ke dalam sel. Membran sel pada awalnya akan membentuk lekukan akibat desakan dari partikel yang akan masuk. Setelah lekukan terlepas, vesikel akan terbentuk dimana jika partikel yang masuk berupa nutrisi maka akan langsung masuk ke dalam sel, namun

jika partikel berupa benda asing maka akan langsung dicerna oleh lisosom dengan bantuan enzim. Endositosis pada sel dapat terjadi secara fagositosis dan pinositosis. Fagositosis merupakan proses masuknya molekul padat ke dalam sel, sedangkan zat cair masuk ke dalam sel secara pinositosis (Berber, 2004).

4.2.1. *Bacillus* PL01

Gambar 4.1. menunjukkan bahwa pada 0 gr/L MSG isolat *Bacillus* PL01 memiliki pola pertumbuhan paling rendah. Namun selama 48 jam masa inkubasi, pertumbuhan *Bacillus* PL01 belum mencapai fase kematian. Hal ini menunjukkan bahwa isolat *Bacillus* PL01 mampu hidup pada MSM, walaupun kurva pertumbuhannya lebih rendah bila dibandingkan dengan kurva pertumbuhan dengan penambahan MSG. Pada 0,5 gr/L MSG, isolat *Bacillus* PL01 mampu tumbuh maksimal, bahkan melebihi pertumbuhan di medium LB. Hal ini menunjukkan penambahan 0,5 gr/L MSG dalam MSM dapat menyediakan nutrisi setara dengan LB untuk pertumbuhan sel *Bacillus* PL01. Namun ketika penambahan MSG ditingkatkan (1 gr/L MSG, 1,5 gr/L MSG, dan 2 gr/L MSG) *Bacillus* PL01 mengalami penurunan pertumbuhan, bahkan kurva pertumbuhannya berada di bawah LB. Hal ini mungkin berkaitan dengan struktur dinding sel *Bacillus* PL01 yang memiliki dinding sel tebal (Gambar 2.3 dan Tabel 2.3)

Peningkatan MSG berpengaruh terhadap konsentrasi lingkungan ekstraseluler, menjadi lebih pekat bagi *Bacillus* PL01. Semakin tinggi konsentrasi MSG yang diberikan, semakin tidak tersedia atau sulit diserap masuk oleh *Bacillus* PL01 karena terhalang oleh lapisan peptidoglikan, sehingga nutrisi alternatif dari MSG tidak tersedia untuk mendukung pertumbuhan bakteri. Lapisan peptidoglikan tebal *Bacillus* PL01 (Gambar 2.3 dan Gambar 2.4) mungkin menjadi penghalang fisik-kimia dinding sel dalam menyerap konsentrasi bahan kimia yang terlalu tinggi.

Bacillus merupakan organisme kemolitotrof yang memiliki kemampuan mereduksi senyawa nitrat menjadi nitrit dan nitrit menjadi ammonia (Madigan, 2012). Bakteri *Bacillus*

memiliki flagela yang tersebar pada seluruh permukaan sel, yang disebut peritrik (Berber, 2004). Fungsi utama flagela pada bakteri yaitu sebagai alat pergerakan. Sel bakteri yang memiliki flagela dapat menghampiri sumber nutrisi. Koordinasi fungsi flagela melibatkan kemoreseptor yang disebut “protein pengikat periplasmik” dan dapat berikatan pada transpor membran. Adanya pergerakan flagela juga melibatkan proses metilasi suatu protein membran plasma spesifik (Hogg, 2005). Bakteri Gram positif dapat menghasilkan polisakarida permukaan yang spesifik dan protein yang berhubungan dengan peptidoglikan. Polisakarida spesifik yang terdapat pada bakteri Gram positif adalah asam teikoat, yang berfungsi sebagai antigen permukaan sel bakteri (Berber, 2004).

Pengaruh konsentrasi MSG terhadap pertumbuhan *Bacillus* PL01 juga dianalisis menggunakan *Analysis of Varians* (ANOVA) *One Way* yang ditunjukkan pada Tabel 4.2.

Tabel 4.2 Hasil ANOVA *One Way*
OD jam ke-16 *Bacillus*

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.319	5	.064	197.157	.000
Within Groups	.010	30	.000		
Total	.329	35			

Berdasarkan Tabel 4.2. dapat diketahui bahwa pada jam ke-16 masa inkubasi pengaruh konsentrasi MSG terhadap pertumbuhan *Bacillus* PL01 memiliki probabilitas atau signifikansi 0.000 yang berarti lebih kecil dari 0.05. Hal ini menunjukkan bahwa penambahan MSG berpengaruh terhadap pertumbuhan *Bacillus* PL01. Analisis dilakukan pada jam ke-16 dikarenakan pada jam tersebut sel bakteri berada pada fase

eksponensial dimana mengalami pertumbuhan yang maksimal. Selanjutnya dilakukan uji Tukey pada tahap kepercayaan 95% (Tabel 4.3).

Tabel 4.3. Hasil Uji Tukey *Bacillus* PL01

<i>Bacillus</i>	N	Subset for alpha = 0.05				
		A	B	C	D	E
0 MSG	6	.366				
1 MSG	6	.390				
2 MSG	6		.577			
1,5 MSG	6			.667		
LB	6				.785	
0,5 MSG	6					.873
Sig.		.847	1.000	1.000	1.000	1.000

Berdasarkan Gambar 4.1.A dan Tabel 4.3 pada konsentrasi 0,5 gr/L MSG memberi pengaruh tertinggi dengan nilai rata-rata serapan OD mencapai 0,87, sehingga dikelompokkan terpisah dari konsentrasi MSG lainnya, yaitu E. Hal yang sama juga terjadi pada konsentrasi 2 gr/L MSG, 1,5 gr/L MSG, dan LB yang berada pada kelompok B, C, D dan memiliki kelompok yang terpisah dari konsentrasi lainnya. Sedangkan untuk konsentrasi 0 gr/L MSG dan 1 gr/L MSG berada pada kelompok yang sama, yaitu A. Hal ini menunjukkan pertumbuhan *Bacillus* PL01 pada 0 gr/L MSG dan 1 gr/L MSG memiliki pola pertumbuhan yang hampir sama. Pola kurva pada Gambar 4.1.A juga menunjukkan hal yang sama, dimana kurva keduanya saling tumpang tindih.

4.2.2. *Pseudomonas* PL01

Kurva pertumbuhan paling rendah pada isolat *Pseudomonas* PL01 juga terjadi pada 0 gr/L MSG. Pertumbuhan *Pseudomonas* PL01 masih di fase stasioner hingga 48 jam masa

inkubasi. Pertumbuhan *Pseudomonas* PL01 di *MSM* di setiap tingkat konsentrasi MSG, terlihat masih lebih rendah dibandingkan dengan pertumbuhannya di medium LB. Hal ini menunjukkan bahwa penambahan MSG pada *MSM* belum memberikan nutrisi setara dengan LB. Medium LB merupakan medium pengkaya, yang mengandung sumber C yang digunakan sel mikroorganisme selama masa pertumbuhan (Corry, 2003). Berbanding terbalik dengan *Bacillus* PL01, semakin tinggi penambahan MSG, maka kurva pertumbuhan *Pseudomonas* PL01 tampak semakin tinggi pula (Gambar 4.1.B) bahkan konsentrasi 2 gr/L MSG dapat memberikan pertumbuhan *Pseudomonas* PL01 tertinggi. Hal ini juga mungkin berkaitan dengan lapisan dinding sel, dimana *Pseudomonas* PL01 memiliki lapisan peptidoglikan yang lebih tipis sehingga MSG mudah diserap oleh sel mikroorganisme dan digunakan sebagai nutrisi alternatif (Gambar 2.4).

Karakter kunci dari genus *Pseudomonas* adalah sel berbentuk basil, gram negatif, aerob obligat, motil, oksidasi fermentatif negatif. Pada bakteri Gram negatif terdapat tiga lapisan pembungkus sel yaitu : membran luar, lapisan tengah yang merupakan dinding sel atau lapisan murein yang terdapat di ruang periplasma, dan membran dalam. Membran luar mengandung fosfolipid, Lipopolisakarida (LPS) yang berperan sebagai antigen permukaan O somatik atau endotoxin (Milton, 2001). Pada bakteri Gram negatif, protein dan lipoprotein memiliki jumlah yang sangat banyak.

Pada *Pseudomonas* PL01 juga dilakukan analisis statistik menggunakan *Analysis of Varians* (ANOVA) *One Way* yang ditunjukkan pada Tabel 4.4.

Tabel 4.4 Hasil ANOVA *One Way*
OD jamke-16 *Pseudomonas*

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.198	5	.040	34.823	.000
Within Groups	.034	30	.001		
Total	.232	35			

Berdasarkan Tabel 4.4. dapat diketahui bahwa pada jam ke-16 masa inkubasi hasil signifikansinya sama seperti *Bacillus* PL01, yaitu lebih kecil dari 0.05. Hal ini menunjukkan bahwa konsentrasi MSG berpengaruh terhadap pertumbuhan *Pseudomonas* PL01. Selanjutnya dilakukan uji Tukey pada tahap kepercayaan 95% (Tabel 4.5).

Tabel 4.5 Hasil Uji Tukey *Pseudomonas* PL01

Tukey HSD

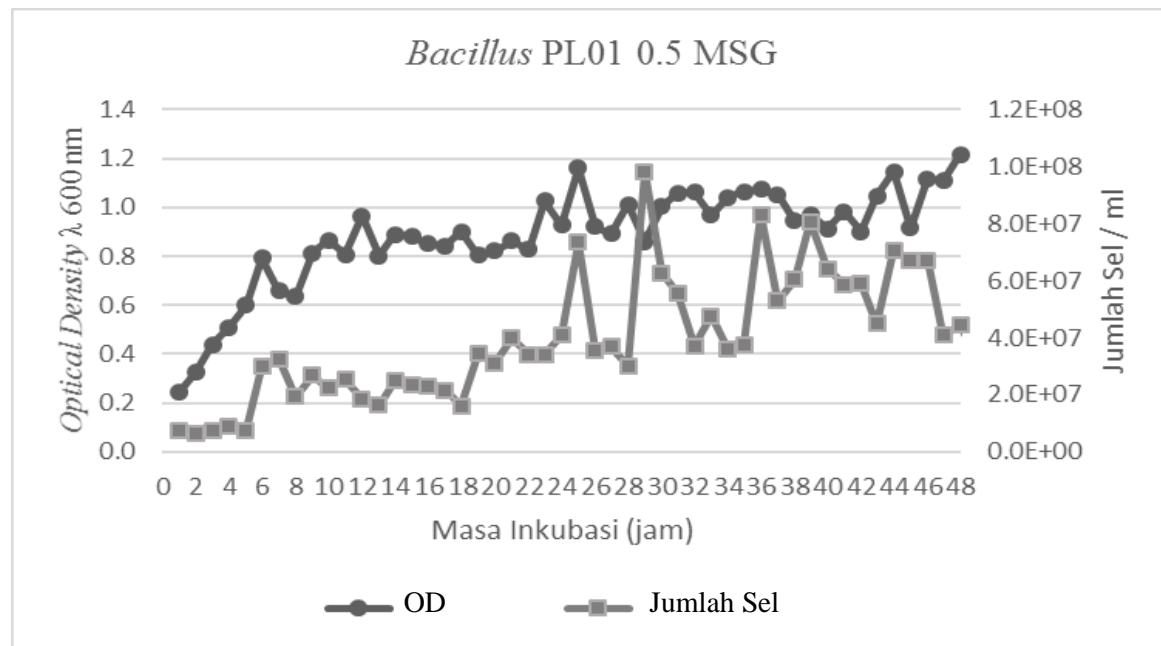
<i>Pseudomonas</i>	N	Subset for alpha = 0.05		
		A	B	C
0 MSG	6	.447		
1 MSG	6	.520	.601	
0,5 MSG	6		.3007	
1,5 MSG	6			.750
LB	6			.823
2 MSG	6			.828
Sig.		.435	.315	.359

Berdasarkan Gambar 4.1.B dan Tabel 4.5, pada konsentrasi 2 gr/L MSG memberi pengaruh tertinggi dengan nilai rata-rata serapan OD mencapai 0,82. Pada konsentrasi 1.5 gr/L MSG, Kontrol LB dan 2 gr/L MSG berada pada kelompok yang sama, yaitu C. Hal ini menunjukkan pertumbuhan *Pseudomonas* PL01 pada 1.5 gr/L MSG, Kontrol LB, dan 2 gr/L MSG memiliki pola pertumbuhan yang hampir sama. Hal ini juga terjadi pada konsentrasi 0 gr/L MSG dan 1 gr/L MSG yang juga memiliki pengelompokkan yang sama, yaitu A. Pola pertumbuhan yang hampir sama juga terjadi pada konsentrasi 1 gr/L MSG dan 0,5 gr/L MSG, dimana berada pada kelompok B. Pola kurva pada Gambar 4.1.B juga menunjukkan hal serupa, dimana terlihat adanya kurva saling tumpang tindih pada konsentrasi MSG yang memiliki pengelompokkan sama.

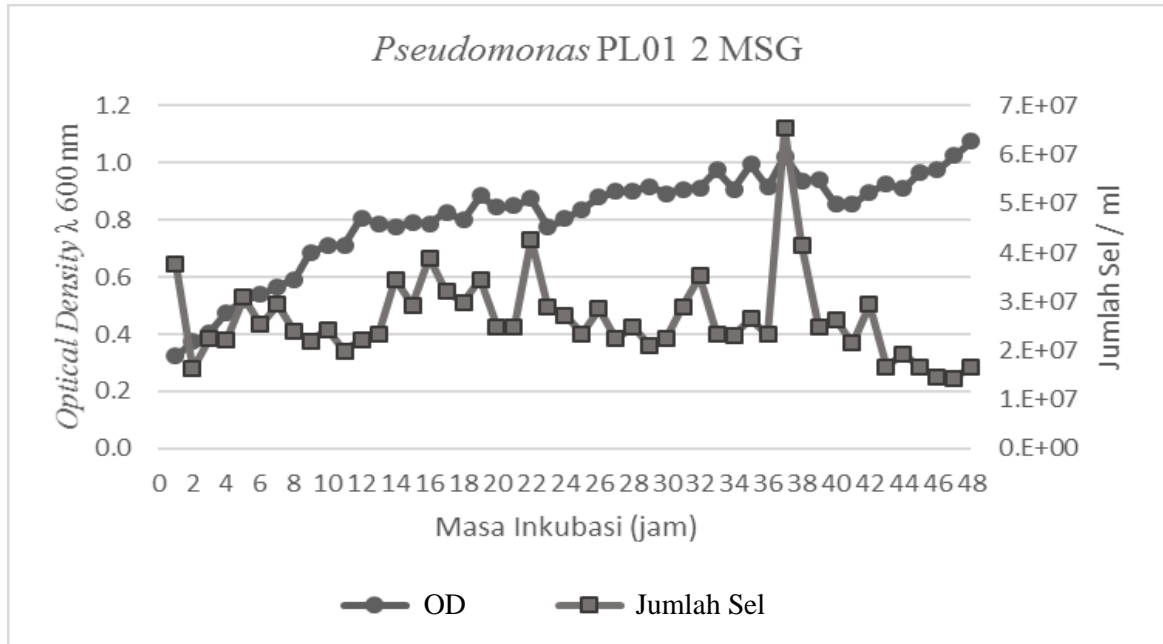
4.3. Korelasi Perhitungan OD dan Jumlah Sel

Perhitungan sel dilakukan secara kualitatif dengan mengukur kekeruhan sel (Turbidimetri) menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 600 nm dan secara kuantitatif dengan menghitung jumlah sel menggunakan *Haemocytometer* pada perbesaran 1000x. Perhitungan sel secara langsung dilakukan dengan menghitung jumlah sel. Dalam penelitian ini korelasi perhitungan OD dan jumlah sel antara kedua isolat uji dilakukan pada penambahan 0,5 gr/L MSG untuk *Bacillus* PL01 dan 2 gr/L MSG untuk *Pseudomonas* PL01 karena pada kedua konsentrasi tersebut isolat uji memberikan pola pertumbuhan tertinggi (Gambar 4.2).

A



B



Gambar 4.2. Kurva Korelasi Perhitungan OD dan Jumlah Sel (A) *Bacillus* PL01 0,5 gr/L MSG
(B) *Pseudomonas* PL01 2 gr/L MSG

Gambar 4.2 menunjukkan bahwa antara pembacaan OD dan jumlah sel memiliki pola pertumbuhan yang hampir sama; besarnya nilai OD berbanding lurus dengan banyaknya jumlah sel. Menurut Laboffe (2010), semakin tinggi OD maka semakin banyak pula jumlah mikroorganisme dalam kultur tersebut. Korelasi antara OD dan Jumlah Sel tiap penambahan MSG pada kedua isolat uji dapat dilihat pada Lampiran 3.

Haemocytometer adalah metode perhitungan secara mikroskopis. Sel bakteri yang tersuspensi akan memenuhi volume ruang hitung sehingga jumlah sel bakteri per satuan volume dapat diketahui (Martin, 2007). Hurrell (2004) menambahkan, kelebihan menghitung jumlah sel menggunakan *Hemacytometer* antara lain cepat dalam menghasilkan data, dan dapat mengamati morfologi sel. Sedangkan kelemahannya adalah tidak dapat membedakan antara sel yang mati dengan yang hidup apabila tidak menggunakan suatu larutan pewarna sebagai pembeda, serta data yang dihasilkan tidak akurat karena setiap pengamat memiliki keterbatasan dalam melihat serta menghitung sel yang ada dalam ruang-ruang kamar *Haemocytometer*.

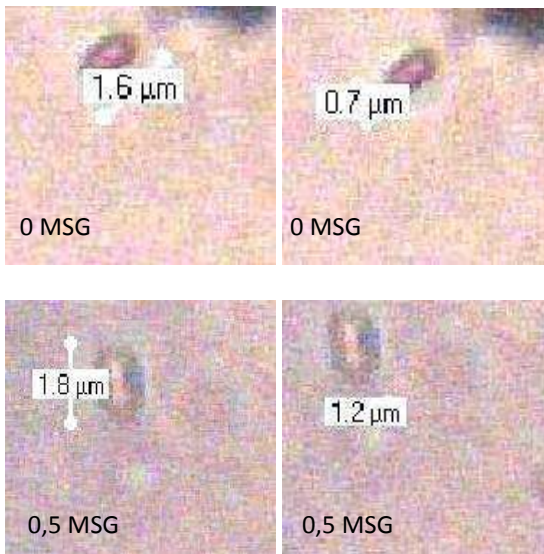
Turbidimetri merupakan metode untuk menghitung jumlah bakteri dalam suatu larutan menggunakan spektrofotometer. Cahaya yang diserap oleh bakteri sebanding dengan volume total sel, ketika jumlah sel mikroorganisme bertambah, maka akan terjadi peningkatan kekeruhan dalam biakan. Semakin pekat suspensi biakan bakteri, maka semakin besar intensitas sinar yang diabsorpsi, sehingga intensitas sinar yang diteruskan semakin kecil. Kelebihan menggunakan metode ini yaitu nilai absorbansi yang dihasilkan lebih akurat, dibandingkan dengan perhitungan secara langsung (Yuliar, 2008).

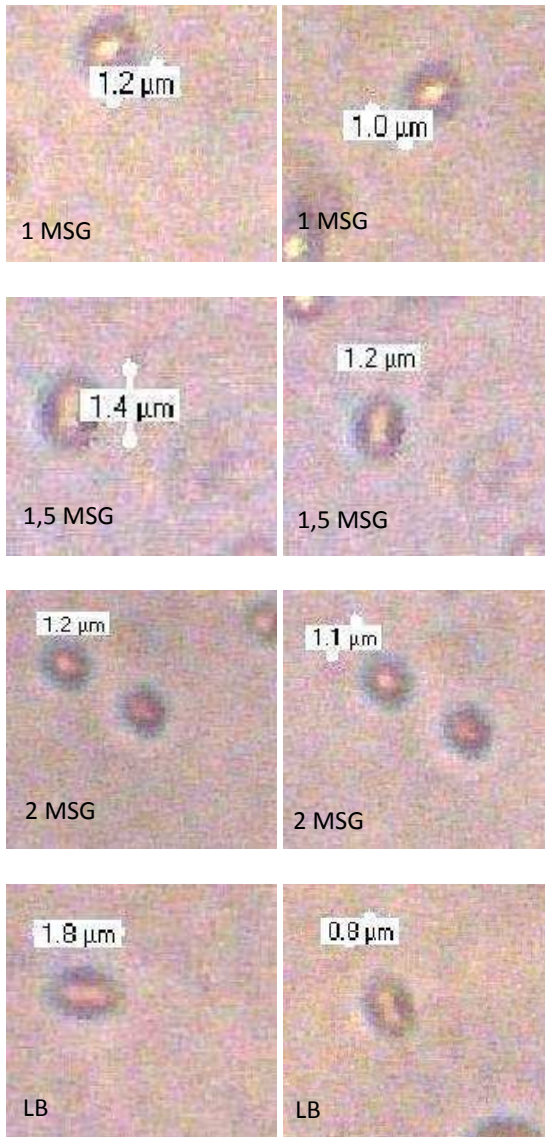
4.4. Pengaruh MSG Terhadap Ukuran Sel

Pengukuran diameter sel dilakukan pada jam ke-16 masa inkubasi, karena dari kurva pertumbuhan (Gambar 4.1) pada jam tersebut sel masuk fase eksponensial. Menurut Hogg (2005), fase eksponensial merupakan fase pertumbuhan mikroorganisme

dimana sel-sel baru terbentuk dengan laju yang konstan dan stabil. Pada fase ini terjadi pembelahan sel secara optimal. Peddie (1999) menambahkan, dalam fase eksponensial bakteri membutuhkan energi lebih tinggi untuk menunjang kebutuhan nutrisinya. Hasil pengukuran sel *Bacillus* PL01 dapat dilihat pada Gambar 4.3 dan sel *Pseudomonas* PL01 pada Gambar 4.4.

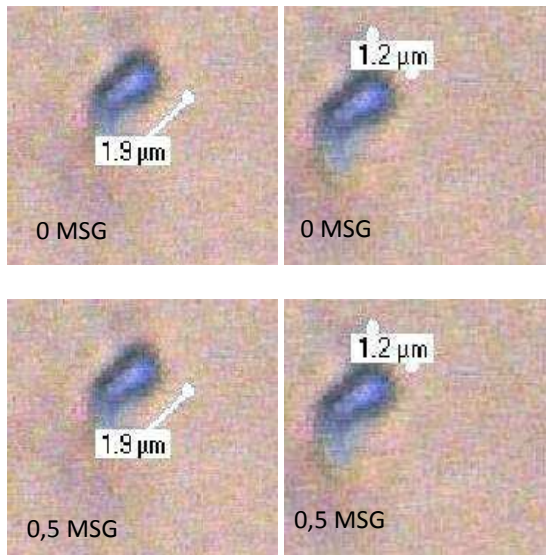
Pertumbuhan bakteri didukung oleh sumber energi dan kondisi lingkungan yang sesuai. Faktor yang mempengaruhi penambahan ukuran sel yaitu ketersediaan nutrisi. Hal ini penting bagi pertumbuhan sel bakteri, dimana selama masa pertumbuhannya sel mikroorganisme membutuhkan sumber C (Canbolat, 2006). Selain itu faktor lainnya adalah ketersediaan oksigen sebagai elektron aseptor terakhir dalam proses respirasi untuk menghasilkan energi bagi pertumbuhannya (Bezkorovainy, 2001). Komponen dinding sel juga dapat memberikan pengaruh terhadap ukuran sel suatu mikroorganisme (Shewry, 2006).

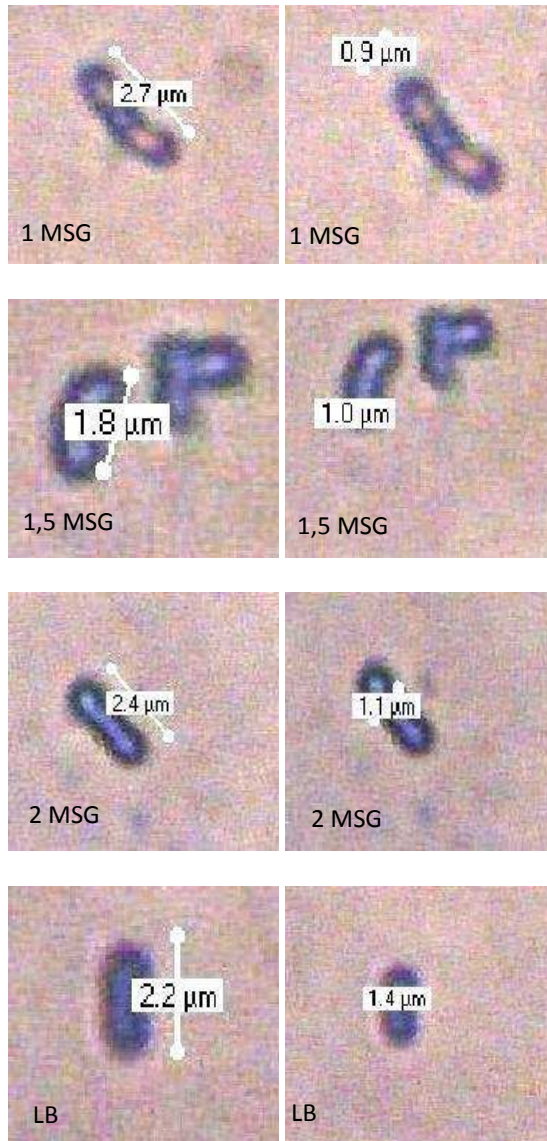




Gambar 4.3. Ukuran Sel *Bacillus* PL01

Dari Gambar 4.3. terlihat pengaruh MSG terhadap penambahan ukuran sel *Bacillus* PL01. Sel *Bacillus* PL01 pada 0 gr/L MSG memiliki ukuran sel paling kecil. Hal ini berkorelasi positif dengan pertumbuhan sel yang tidak optimal pada *MSM* tanpa MSG. Namun ketika *MSM* ditambahkan MSG ukuran sel *Bacillus* PL01 pun membesar. Pada penambahan 0,5 gr/L MSG mampu memberikan pengaruh tertinggi pada pertumbuhan sel *Bacillus* PL01 dengan ukuran sel mencapai $1,8\mu\text{m} \times 1,2\mu\text{m}$. Pada penambahan 1 gr/L MSG , 1,5 gr/L MSG , dan 2 gr/L MSG ukuran sel juga membesar, walaupun masih berada dibawah ukuran sel pada LB yang mencapai $1,8\mu\text{m} \times 0,8\mu\text{m}$. Ukuran sel pada medium LB tampak lebih kecil dibandingkan dengan ukuran sel pada 0,5 gr/L MSG.





Gambar 4.4. Ukuran Sel *Pseudomonas* PL01

Sama halnya dengan *Bacillus* PL01, ukuran sel *Pseudomonas* PL01 meningkat dengan penambahan MSG (0,5 gr/L MSG, 1 gr/L MSG, 1,5 gr/L MSG, 2 gr/L MSG) . Pada konsentrasi 2 gr/L MSG, sel *Pseudomonas* PL01 mencapai ukuran tertinggi yaitu $2,4\mu\text{m} \times 1,1\mu\text{m}$, walaupun masih dibawah ukuran sel di medium LB yang mencapai $2,2\mu\text{m} \times 1,4\mu\text{m}$.

Pada Gambar 4.4. dapat dilihat juga bahwa sel-sel *Pseudomonas* PL01 membentuk rantai panjang. Hal ini mungkin sebagai indikasi awal bahwa penambahan MSG dapat menstimulus pembentukan formasi rantai untuk *Pseudomonas* PL01. Formasi rantai ini juga berpengaruh pada serapan nilai OD. Menurut Jawetz (2004), jika sel membentuk rantai maka nilai serapan absorbansi dapat menjadi semakin kecil, bila dibandingkan dengan sel bentuk tunggal. Adanya fenomena pembentukan formasi rantai ini maka pembacaan absorbansi pertumbuhan sel *Pseudomonas* PL01 pada Gambar 4.1.B perlu diuji lebih lanjut karena ada kemungkinan nilai absorbansi pada MSG lebih tinggi dibanding pada kontrol LB. Sedangkan untuk jarak kurva antar perlakuan diasumsikan masih memiliki jarak yang dekat karena adanya pengaruh dinding sel.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Komposisi medium

Komposisi medium NA dalam g/L

Komposisi	g/L
Pepton	5
Ekstrak daging	3
Agar	15

pH akhir medium 7, medium diautoklaf selama 15 menit dengan suhu 121°C dan 1,5 atm, warna akhir medium setelah diautoklaf adalah kuning bening

Komposisi medium NB dalam g/L

Komposisi	g/L
Pepton	5
Ekstrak daging	3

pH akhir medium 7, medium diautoklaf selama 15 menit dengan suhu 121°C dan 1,5 atm, warna akhir medium setelah diautoklaf adalah kuning bening

Komposisi medium MSM dalam g/L

Komposisi	g/L
MgSO ₄	0,2
CaCl ₂	0.02
KH ₂ PO ₄	1
K ₂ HPO ₄	1
NH ₄ NO ₃	1
FeCl ₂	0,05

pH akhir medium 7, medium diautoklaf selama 15 menit dengan suhu 121°C dan 1,5 atm, warna akhir medium setelah diautoklaf adalah putih hingga kuning

Komposisi medium Tioglikolat cair dalam g/L

Komposisi	g/L
Pepton	15
Ekstrak <i>yeast</i>	5
Dekstrosa	5
L-sistein	0,75
Asam tioglikolat	0,5
Sodium klorida	2,5
Resazurin	0,001
Agar	0,75

pH akhir medium 7,1, medium diautoklaf selama 15 menit dengan suhu 121°C dan 1,5 atm, warna akhir medium setelah diautoklaf adalah putih hingga kuning

Komposisi medium TSIA dalam g/L

Komposisi	g/L
Beef extract	3
Yeast extract	3
Peptone	15
Peptose-peptone	5
Lactose	10
Saccharose	10
Dextrose	1
Ferrous sulfate	0,2
Sodium chloride	5
Sodium thiosulfate	0,3
Phenol red	0,024
Agar	12

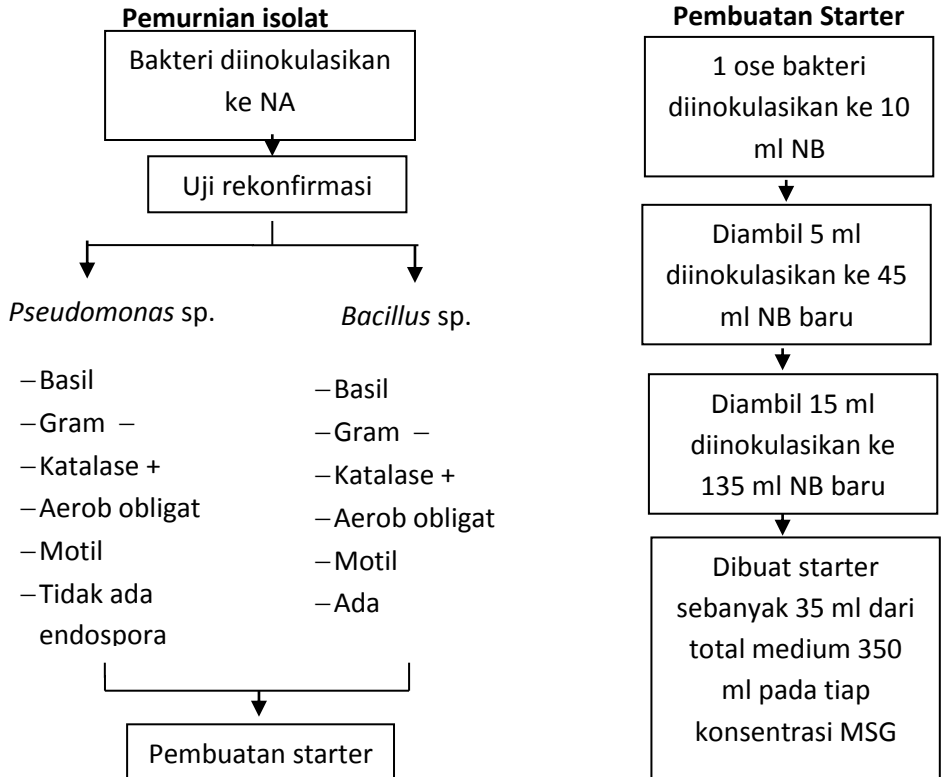
pH akhir medium 7,4, medium diautoklaf selama 15 menit dengan suhu 121°C dan 1,5 atm, warna akhir medium setelah diautoklaf adalah merah kecoklatan

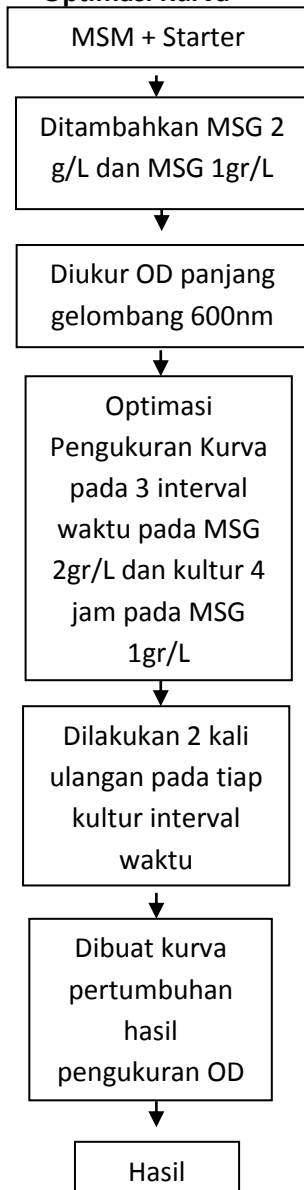
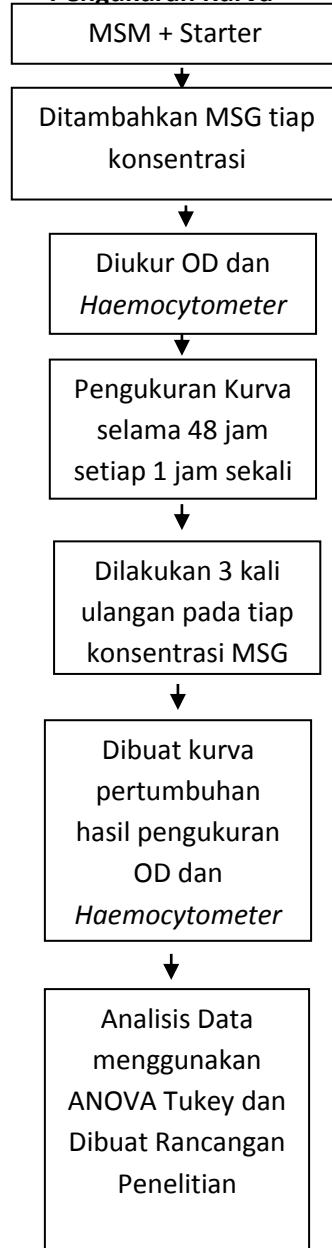
Komposisi medium Lactose Broth (LB) dalam g/L

Komposisi	g/L
Pepton	5
Ekstrak daging	3
Laktosa	5

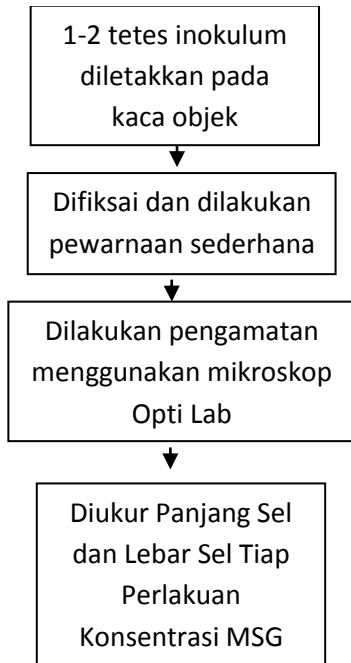
pH akhir medium 7, medium diautoklaf selama 15 menit dengan suhu 121°C dan 1,5 atm, warna akhir medium setelah diautoklaf adalah kuning bening

Lampiran 2. Diagram alir penelitian

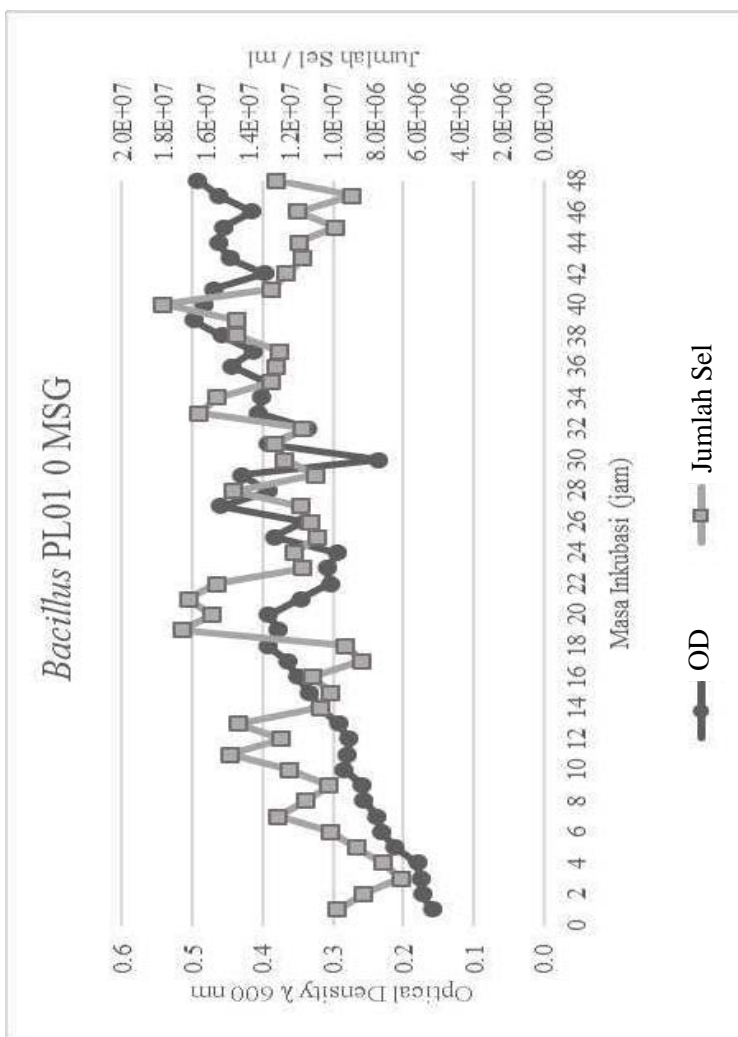


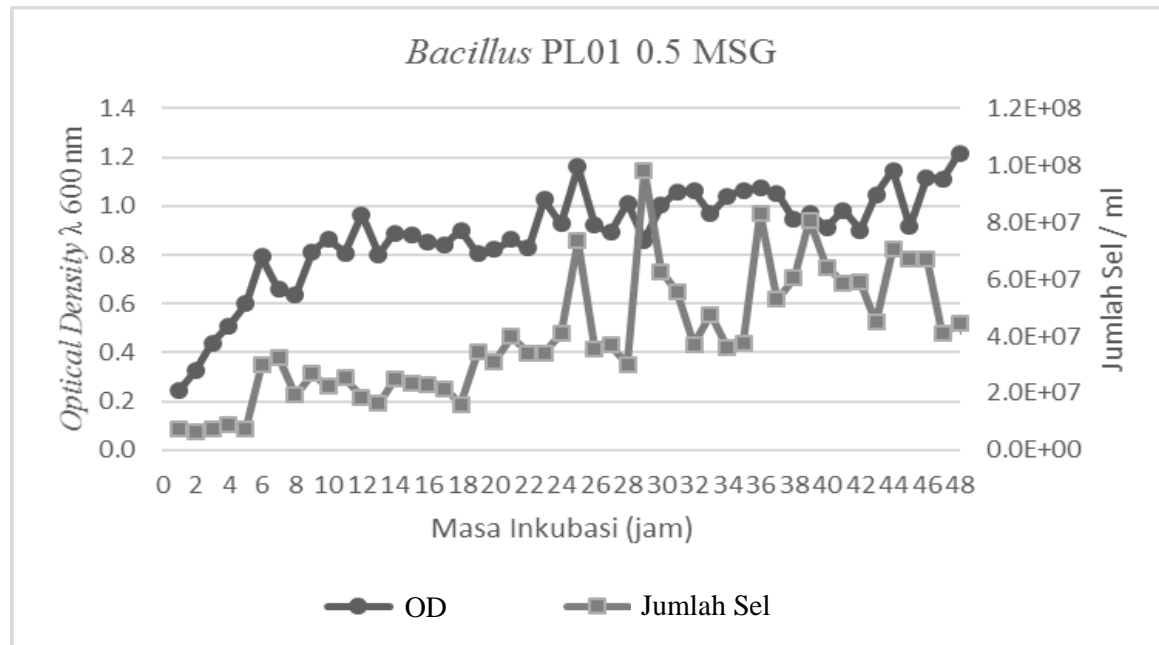
Optimasi Kurva**Pengukuran Kurva**

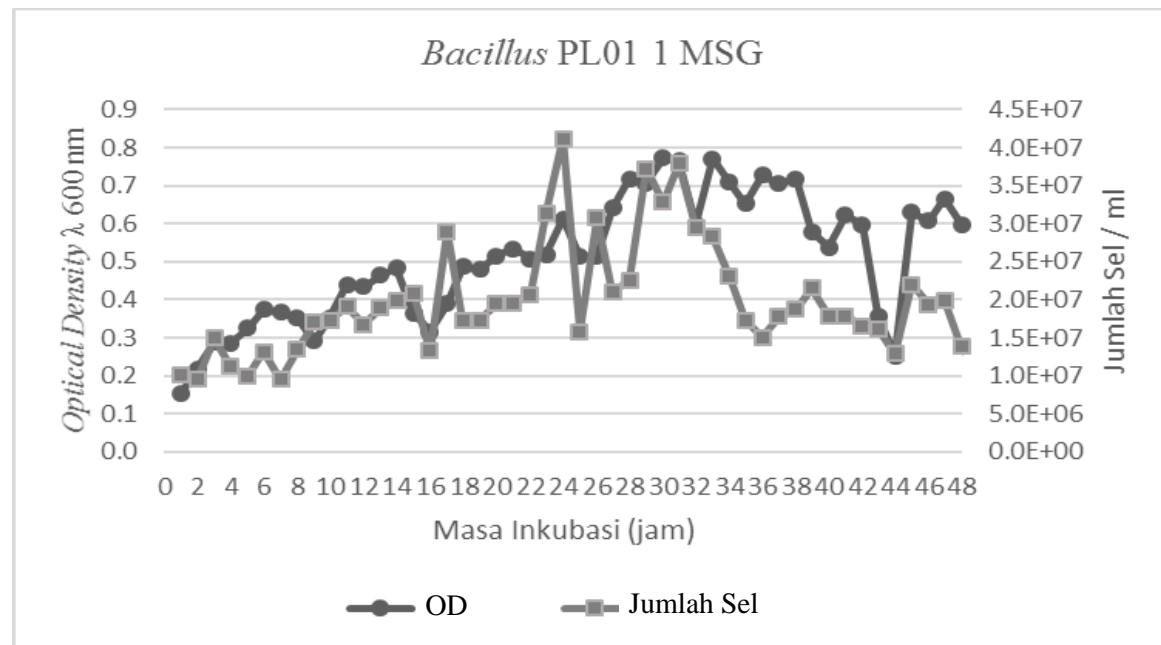
Pengukuran Diameter Sel

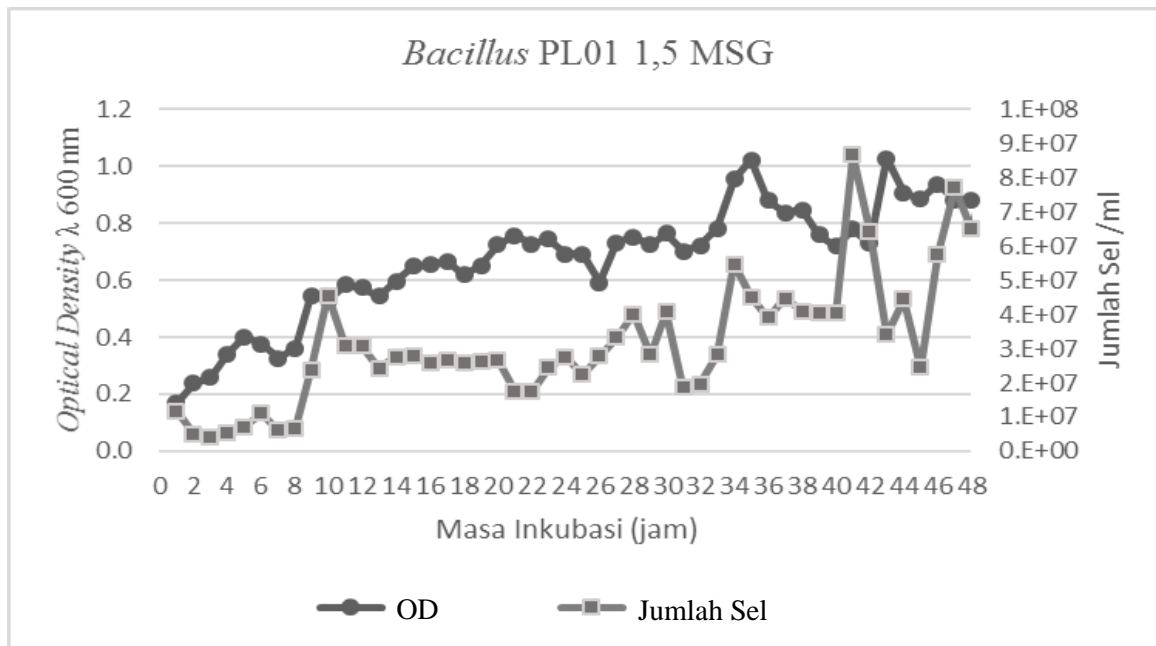


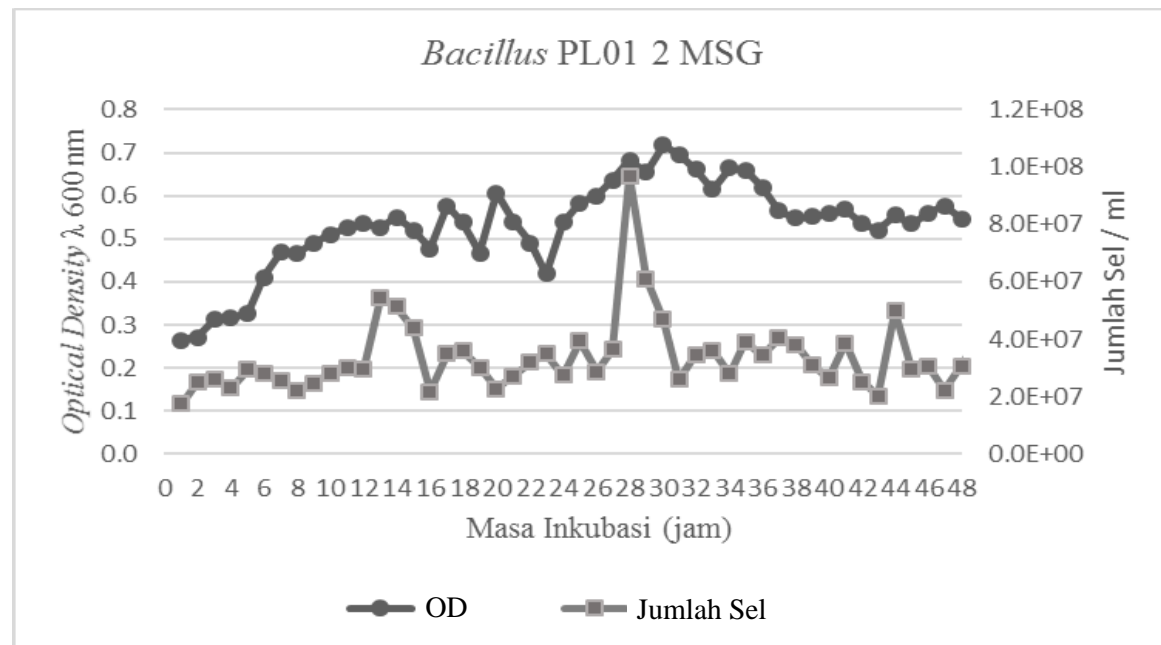
Lampiran 3. Korelasi Kurva OD dan Jumlah Sel

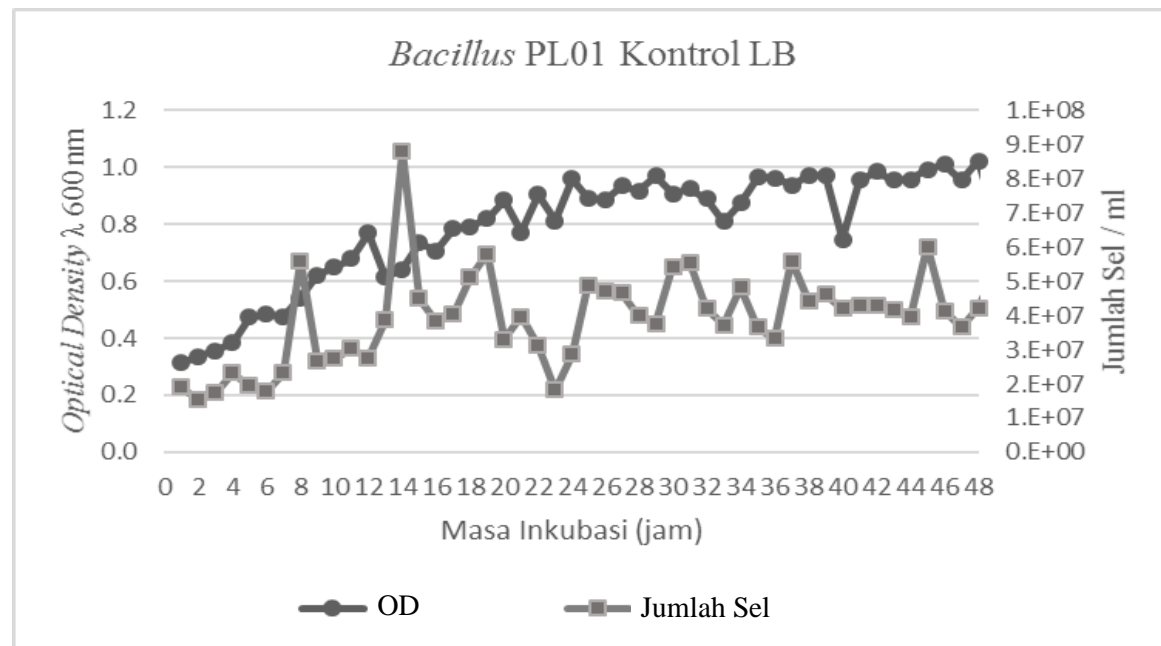


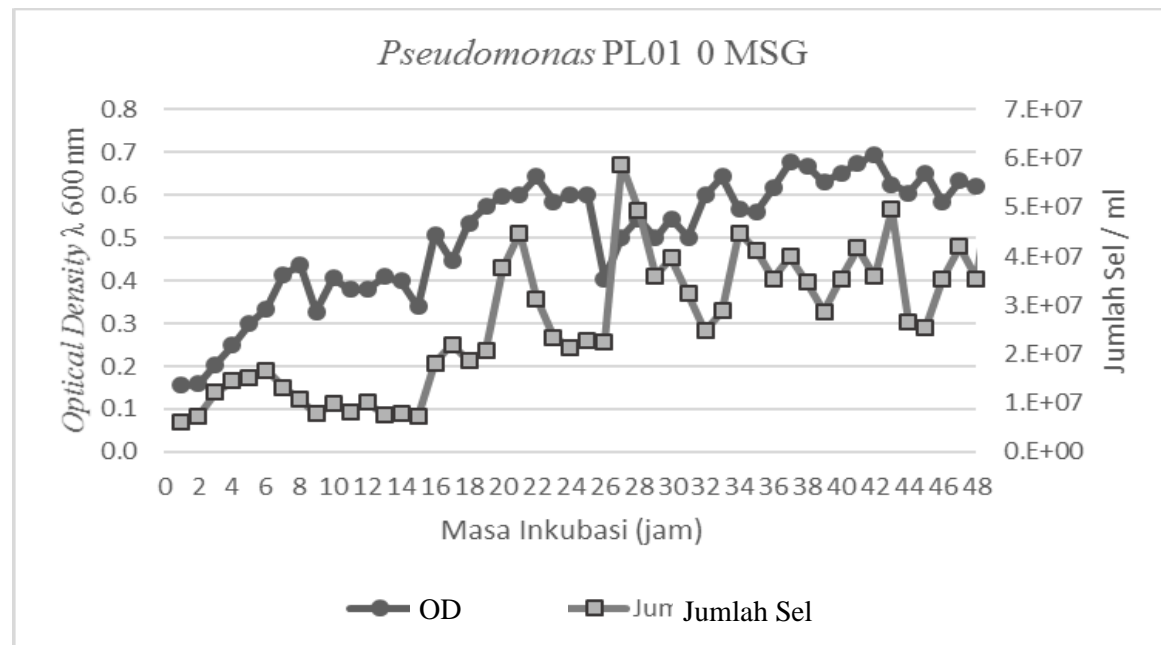


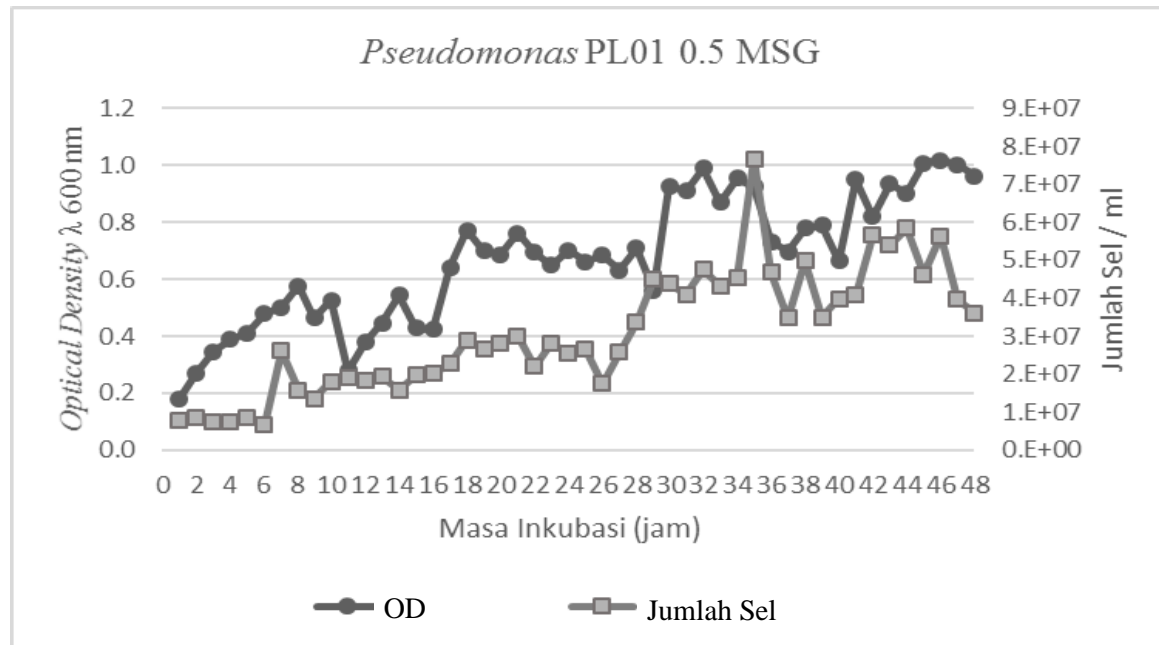


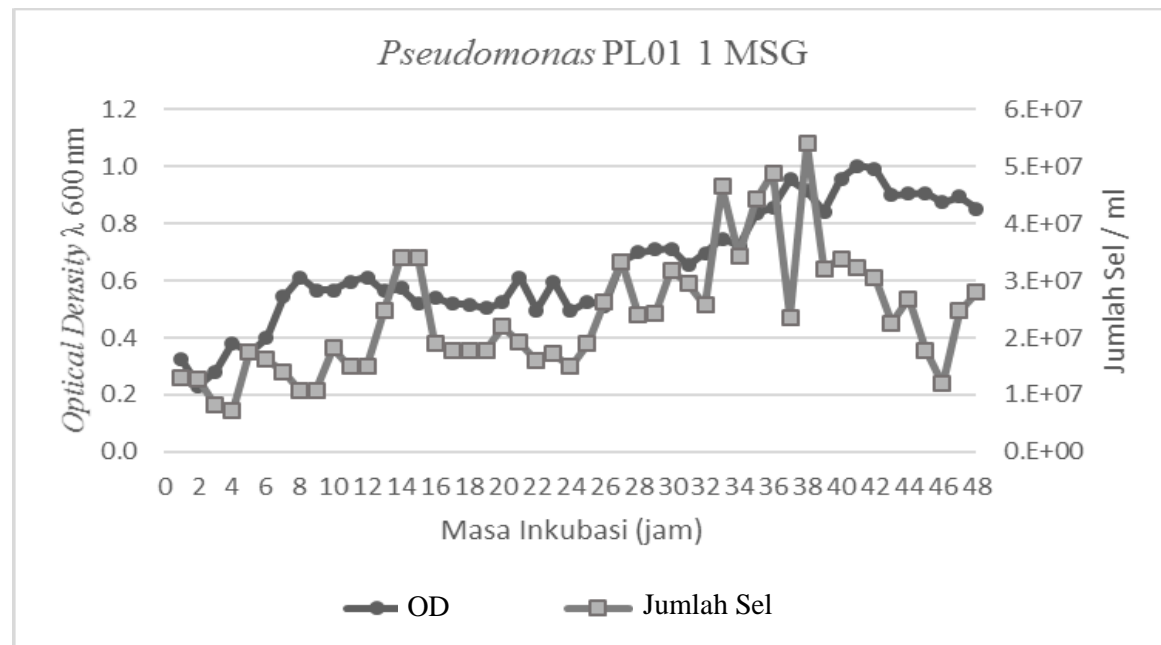


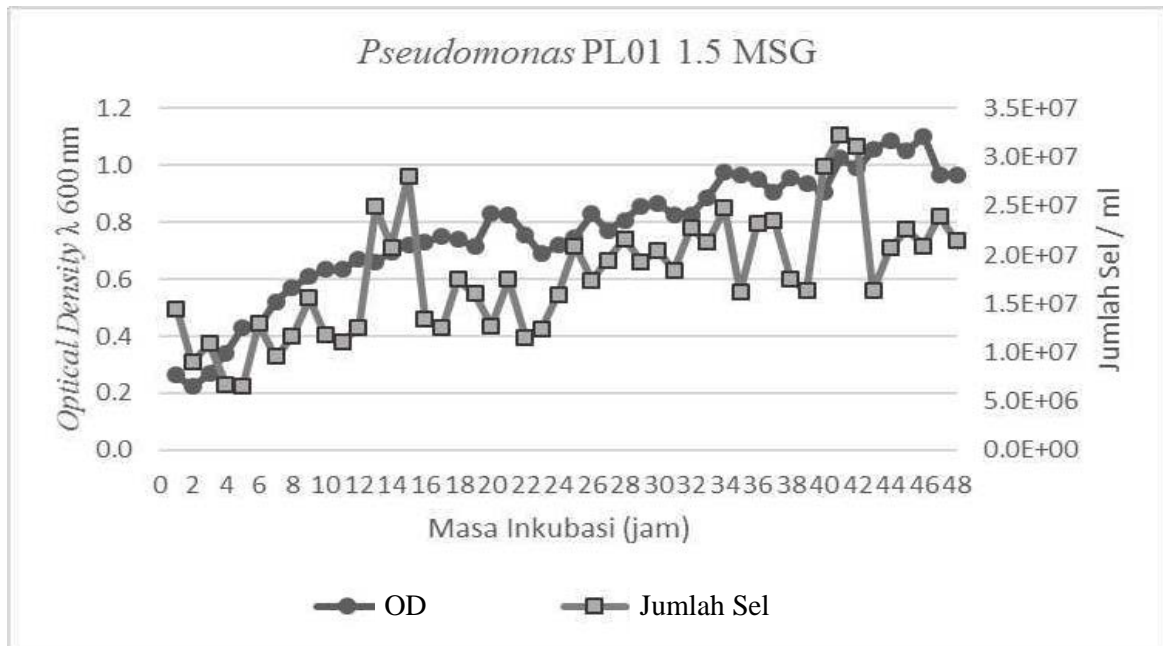


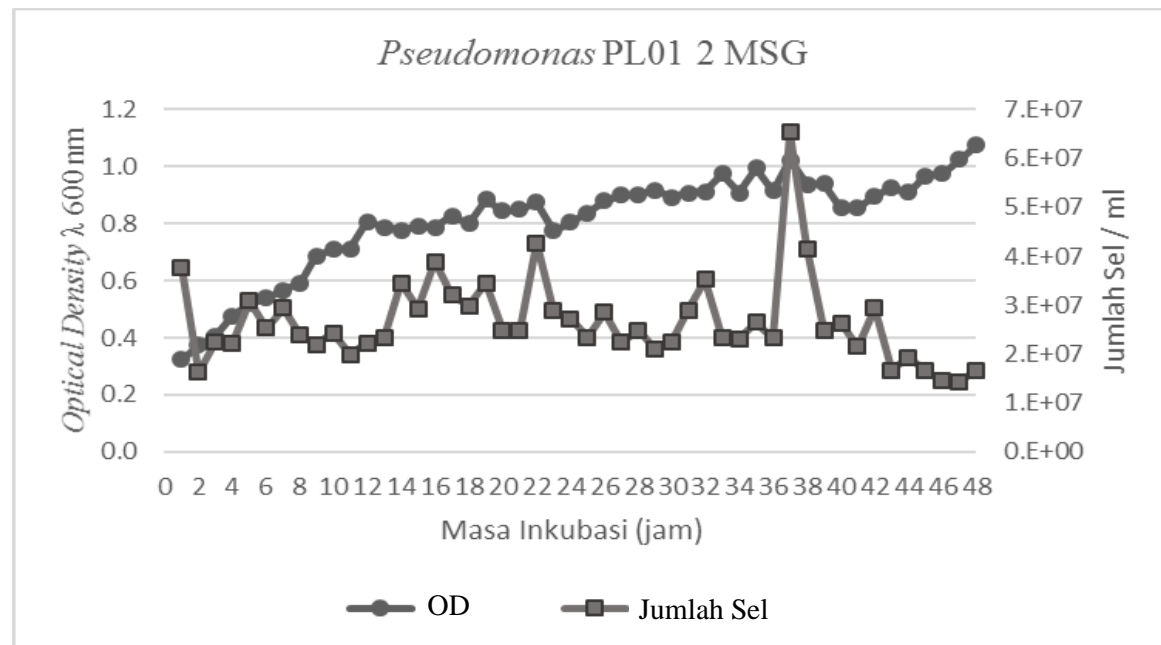


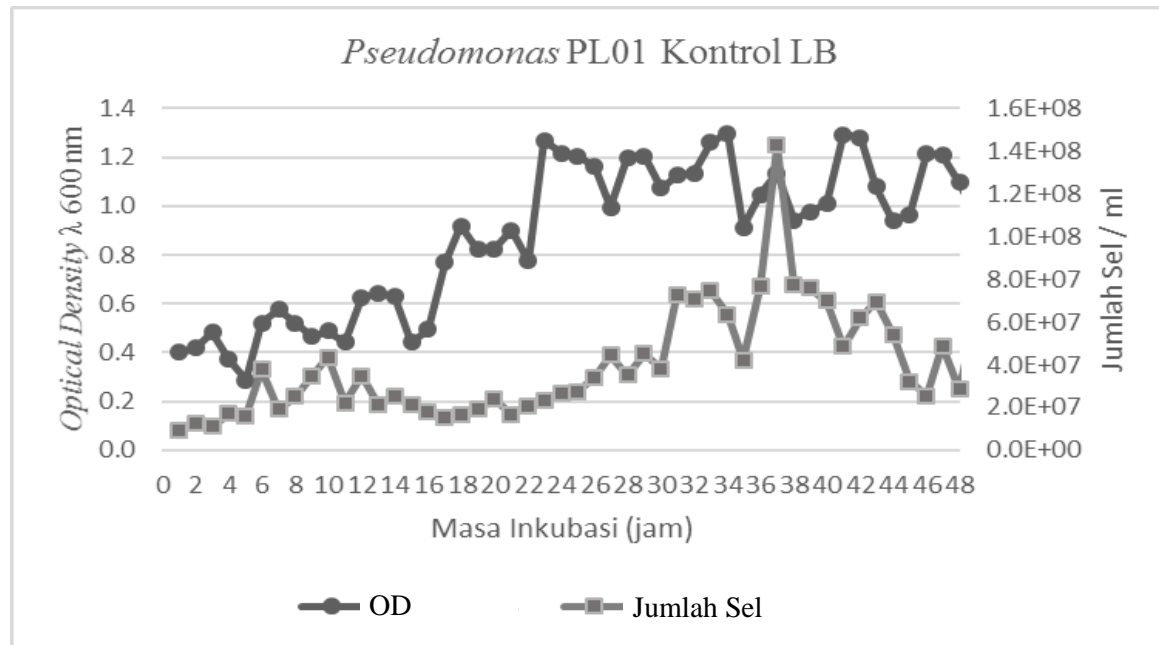












Bacillus PL01 Konsentrasi 0 MSG

jam ke	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
kultur 1	0.152	0.172	0.176	0.182	0.230	0.240	0.258	0.250	0.246	0.316	0.306	0.306	0.260
	0.144	0.156	0.174	0.178	0.228	0.238	0.236	0.254	0.244	0.316	0.304	0.306	0.258
kultur 2	0.176	0.19	0.184	0.174	0.198	0.262	0.234	0.28	0.274	0.264	0.272	0.252	0.296
	0.154	0.174	0.172	0.174	0.192	0.216	0.238	0.280	0.210	0.262	0.286	0.284	0.314
kultur 3	0.176	0.178	0.15	0.166	0.214	0.226	0.218	0.264	0.29	0.306	0.266	0.266	0.328
	0.152	0.17	0.198	0.208	0.212	0.212	0.246	0.208	0.29	0.244	0.242	0.254	0.304
rata2	0.159	0.173	0.176	0.180	0.212	0.232	0.238	0.256	0.259	0.285	0.279	0.278	0.293

13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25
0.340	0.304	0.370	0.358	0.392	0.360	0.484	0.328	0.272	0.260	0.236	0.432	0.400
0.276	0.304	0.366	0.368	0.39	0.36	0.37	0.328	0.27	0.28	0.306	0.276	0.242
0.316	0.384	0.358	0.366	0.39	0.34	0.364	0.37	0.342	0.278	0.246	0.278	0.24
0.318	0.336	0.338	0.420	0.406	0.446	0.362	0.370	0.292	0.380	0.280	0.538	0.302
0.322	0.34	0.352	0.324	0.394	0.388	0.362	0.316	0.328	0.428	0.288	0.476	0.434
0.348	0.336	0.322	0.358	0.39	0.378	0.414	0.366	0.326	0.228	0.406	0.304	0.434
0.320	0.334	0.351	0.366	0.394	0.379	0.393	0.346	0.305	0.309	0.294	0.384	0.342

26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38
0.286	0.378	0.456	0.198	0.356	0.308	0.330	0.346	0.352	0.420	0.384	0.382	0.546
0.52	0.29	0.364	0.234	0.338	0.302	0.434	0.358	0.392	0.444	0.46	0.47	0.548
0.348	0.46	0.432	0.234	0.53	0.302	0.46	0.418	0.41	0.488	0.404	0.456	0.474
0.518	0.428	0.508	0.222	0.300	0.426	0.460	0.414	0.400	0.488	0.410	0.458	0.490
0.558	0.382	0.464	0.272	0.416	0.34	0.326	0.434	0.406	0.414	0.412	0.442	0.46
0.528	0.414	0.358	0.256	0.414	0.338	0.436	0.44	0.41	0.414	0.412	0.544	0.474
0.460	0.392	0.430	0.236	0.392	0.336	0.408	0.402	0.395	0.445	0.414	0.459	0.499

39	40	41	42	43	44	45	46	47	48
0.456	0.438	0.362	0.494	0.382	0.446	0.442	0.450	0.466	0.424
0.484	0.45	0.444	0.492	0.53	0.514	0.418	0.45	0.506	0.418
0.484	0.46	0.424	0.422	0.46	0.506	0.424	0.528	0.492	0.418
0.392	0.458	0.328	0.378	0.448	0.400	0.424	0.470	0.492	0.486
0.496	0.474	0.462	0.414	0.47	0.43	0.4	0.436	0.476	0.484
0.586	0.542	0.37	0.486	0.49	0.442	0.386	0.446	0.528	0.466
0.483	0.470	0.398	0.448	0.463	0.456	0.416	0.463	0.493	0.449

Bacillus PL01 Konsentrasi 0.5 MSG

jam ke	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
kultur 1	0.326	0.390	0.482	0.508	0.668	0.628	0.674	0.600	0.684	0.824	0.864	0.834	0.890
	0.326	0.392	0.482	0.508	0.666	0.628	0.682	0.7	0.684	0.822	0.858	0.722	0.848
kultur 2	0.282	0.34	0.436	0.586	0.69	0.724	0.516	0.678	0.694	0.786	0.714	0.9	0.792
	0.268	0.304	0.448	0.452	0.562	0.604	0.584	0.650	0.778	0.854	0.818	0.900	0.846
kultur 3	0.246	0.324	0.44	0.508	0.6	0.792	0.658	0.634	0.814	0.866	0.808	0.966	0.802
	0.276	0.326	0.49	0.508	0.6	0.794	0.632	0.654	0.802	0.85	0.916	0.968	0.802
rata2	0.287	0.346	0.463	0.512	0.631	0.695	0.624	0.653	0.743	0.834	0.830	0.882	0.830

13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25
0.866	0.732	0.880	0.944	0.692	0.912	0.786	0.874	0.826	0.862	0.762	1.034	1.006
0.866	0.898	0.88	0.944	0.832	0.91	0.754	0.826	0.828	0.898	0.764	1.036	0.98
0.766	0.896	0.832	0.834	0.876	0.892	0.946	0.922	0.94	0.832	0.796	1.162	1.018
0.800	0.894	0.910	0.834	0.876	0.862	0.946	0.924	0.884	0.832	0.744	1.082	1.060
0.888	0.88	0.852	0.842	0.9	0.804	0.822	0.862	0.828	1.026	0.926	1.162	0.922
0.888	0.88	0.684	0.842	0.902	0.932	0.822	0.862	0.83	1.024	0.926	1.162	0.924
0.846	0.863	0.840	0.873	0.846	0.885	0.846	0.878	0.856	0.912	0.820	1.106	0.985

26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38
0.996	1.002	0.978	0.954	1.014	1.242	1.002	1.056	1.092	1.002	1.046	0.972	1.082
0.994	1.004	0.976	0.956	1.02	1.242	1.002	1.058	1.11	1.002	1.05	0.974	1.08
1.016	0.984	0.964	0.882	1.072	1.178	0.998	1.09	1.142	1	1.088	1.062	1.13
0.996	1.038	1.012	0.888	1.018	1.190	0.998	1.076	1.138	1.000	1.068	1.038	1.132
0.892	1.012	0.86	1.004	1.058	1.062	0.968	1.042	1.064	1.074	1.054	0.946	0.972
0.892	1.018	0.856	1.006	1.056	1.062	0.97	1.052	1.07	1.118	1.038	0.948	1.014
0.964	1.010	0.941	0.948	1.040	1.163	0.990	1.062	1.103	1.033	1.057	0.990	1.068

39	40	41	42	43	44	45	46	47	48
1.216	1.188	1.072	1.100	0.914	0.902	0.900	0.980	1.222	1.160
1.218	1.188	1.074	1.1	0.914	0.9	0.9	0.978	1.224	1.158
1.196	1.192	1.028	1.066	0.872	1	1.108	1.346	1.32	1.032
1.094	1.194	1.064	0.946	0.940	1.096	0.970	0.948	1.318	1.204
0.914	0.982	0.902	1.048	1.148	0.916	1.118	1.108	1.216	1.192
0.884	0.982	0.904	1.05	1.15	0.914	1.116	1.108	1.218	1.192
1.087	1.121	1.007	1.052	0.990	0.955	1.019	1.078	1.253	1.156

Bacillus PL01 Konsentrasi 1 MSG

jam ke	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
kultur 1	0.102	0.218	0.304	0.266	0.338	0.360	0.376	0.348	0.306	0.308	0.474	0.454	0.446
	0.144	0.232	0.312	0.288	0.272	0.38	0.348	0.266	0.266	0.362	0.44	0.426	0.448
kultur 2	0.132	0.232	0.302	0.296	0.358	0.38	0.348	0.346	0.308	0.362	0.44	0.43	0.446
	0.216	0.172	0.302	0.294	0.314	0.410	0.392	0.396	0.334	0.344	0.416	0.388	0.410
kultur 3	0.158	0.23	0.274	0.324	0.298	0.336	0.37	0.376	0.27	0.326	0.418	0.438	0.518
	0.17	0.228	0.238	0.25	0.378	0.382	0.37	0.376	0.268	0.424	0.456	0.472	0.516
rata2	0.154	0.219	0.289	0.286	0.326	0.375	0.367	0.351	0.292	0.354	0.441	0.435	0.464

13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25
0.428	0.382	0.348	0.402	0.504	0.386	0.498	0.484	0.494	0.568	0.748	0.594	0.498
0.536	0.38	0.336	0.398	0.526	0.522	0.478	0.602	0.588	0.51	0.674	0.46	0.6
0.536	0.38	0.338	0.394	0.444	0.524	0.566	0.446	0.472	0.51	0.672	0.48	0.602
0.440	0.302	0.260	0.370	0.470	0.520	0.514	0.444	0.422	0.444	0.588	0.480	0.438
0.47	0.35	0.308	0.388	0.488	0.472	0.518	0.624	0.534	0.54	0.496	0.594	0.478
0.488	0.4	0.31	0.388	0.49	0.456	0.518	0.6	0.536	0.54	0.498	0.47	0.478
0.483	0.366	0.317	0.390	0.487	0.480	0.515	0.533	0.508	0.519	0.613	0.513	0.516

26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38
0.658	0.766	0.684	0.738	0.724	0.616	0.790	0.632	0.728	0.694	0.630	0.608	0.652
0.676	0.774	0.782	0.834	0.786	0.608	0.822	0.822	0.696	0.746	0.714	0.754	0.608
0.672	0.668	0.796	0.834	0.732	0.608	0.822	0.748	0.698	0.742	0.638	0.756	0.604
0.634	0.668	0.680	0.704	0.792	0.650	0.770	0.666	0.626	0.696	0.794	0.766	0.510
0.602	0.744	0.596	0.778	0.818	0.536	0.66	0.656	0.576	0.648	0.734	0.708	0.53
0.604	0.694	0.702	0.744	0.742	0.566	0.758	0.726	0.594	0.844	0.72	0.718	0.566
0.641	0.719	0.707	0.772	0.766	0.597	0.770	0.708	0.653	0.728	0.705	0.718	0.578

39	40	41	42	43	44	45	46	47	48
0.454	0.666	0.632	0.400	0.306	0.638	0.604	0.660	0.560	0.638
0.522	0.644	0.638	0.38	0.256	0.68	0.602	0.716	0.652	0.57
0.524	0.642	0.596	0.382	0.256	0.566	0.602	0.714	0.624	0.57
0.566	0.590	0.602	0.358	0.190	0.606	0.614	0.658	0.546	0.554
0.582	0.596	0.516	0.372	0.296	0.546	0.594	0.622	0.55	0.624
0.584	0.6	0.604	0.254	0.212	0.746	0.63	0.622	0.658	0.626
0.539	0.623	0.598	0.358	0.253	0.630	0.608	0.665	0.598	0.597

Bacillus PL01 Konsentrasi 1,5 MSG

jam ke	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
kultur 1	0.164	0.230	0.280	0.312	0.376	0.354	0.286	0.444	0.554	0.552	0.522	0.606	0.504
	0.146	0.24	0.262	0.308	0.296	0.398	0.288	0.36	0.558	0.472	0.544	0.526	0.556
kultur 2	0.14	0.242	0.236	0.358	0.396	0.478	0.382	0.34	0.476	0.528	0.53	0.578	0.532
	0.192	0.232	0.234	0.358	0.458	0.380	0.390	0.340	0.476	0.528	0.620	0.696	0.474
kultur 3	0.184	0.244	0.28	0.356	0.44	0.336	0.21	0.402	0.608	0.58	0.648	0.496	0.602
	0.186	0.246	0.258	0.356	0.438	0.31	0.404	0.276	0.608	0.518	0.646	0.538	0.602
rata2	0.169	0.239	0.258	0.341	0.401	0.376	0.327	0.360	0.547	0.530	0.585	0.573	0.545

13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25
0.568	0.556	0.686	0.650	0.542	0.680	0.720	0.698	0.706	0.718	0.740	0.652	0.608
0.592	0.634	0.654	0.652	0.632	0.626	0.652	0.774	0.776	0.764	0.742	0.722	0.612
0.626	0.632	0.654	0.698	0.66	0.628	0.772	0.772	0.736	0.764	0.658	0.724	0.614
0.558	0.584	0.646	0.686	0.616	0.638	0.740	0.792	0.720	0.716	0.658	0.600	0.642
0.616	0.74	0.642	0.66	0.654	0.672	0.708	0.758	0.716	0.754	0.692	0.726	0.542
0.616	0.75	0.642	0.658	0.614	0.672	0.762	0.756	0.714	0.752	0.668	0.726	0.54
0.596	0.649	0.654	0.667	0.620	0.653	0.726	0.758	0.728	0.745	0.693	0.692	0.593

26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38
0.822	0.768	0.758	0.688	0.758	0.698	0.778	0.980	1.004	0.730	0.954	0.866	0.796
0.83	0.784	0.718	0.688	0.72	0.684	0.78	0.916	1.1	0.828	0.702	0.888	0.742
0.83	0.784	0.72	0.82	0.718	0.682	0.778	0.998	1.068	0.828	0.876	0.798	0.802
0.596	0.824	0.858	0.784	0.748	0.744	0.778	0.988	1.068	0.998	0.876	0.830	0.804
0.658	0.648	0.59	0.824	0.584	0.72	0.772	0.926	0.91	0.91	0.726	0.812	0.708
0.658	0.7	0.7	0.778	0.678	0.81	0.804	0.922	0.992	0.986	0.888	0.896	0.702
0.732	0.751	0.724	0.764	0.701	0.723	0.782	0.955	1.024	0.880	0.837	0.848	0.759

39	40	41	42	43	44	45	46	47	48
0.712	0.702	0.748	1.000	1.036	0.990	0.852	0.880	0.766	0.798
0.628	0.812	0.746	1.06	0.852	0.828	1.034	0.87	0.93	0.92
0.7	0.784	0.63	1.04	1.034	0.826	0.838	0.798	0.954	0.94
0.820	0.784	0.718	1.058	0.808	0.864	1.036	0.892	0.820	0.940
0.716	0.818	0.768	1.094	0.856	0.91	0.916	0.932	0.974	0.894
0.748	0.784	0.762	0.914	0.864	0.89	0.956	0.93	0.838	0.908
0.721	0.781	0.729	1.028	0.908	0.885	0.939	0.884	0.880	0.900

***Bacillus* PL01 Konsentrasi 2 MSG**

jam ke	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
kultur 1	0.242	0.218	0.384	0.346	0.288	0.414	0.426	0.504	0.520	0.524	0.480	0.532	0.480
	0.23	0.226	0.34	0.3	0.33	0.426	0.434	0.434	0.436	0.534	0.52	0.528	0.506
kultur 2	0.244	0.304	0.298	0.316	0.292	0.43	0.398	0.436	0.51	0.464	0.524	0.468	0.506
	0.310	0.264	0.300	0.326	0.304	0.336	0.504	0.418	0.510	0.524	0.554	0.610	0.552
kultur 3	0.282	0.308	0.248	0.292	0.394	0.426	0.556	0.5	0.486	0.506	0.494	0.492	0.536
	0.28	0.306	0.308	0.312	0.354	0.428	0.49	0.51	0.474	0.506	0.582	0.582	0.58
rata2	0.265	0.271	0.313	0.315	0.327	0.410	0.468	0.467	0.489	0.510	0.526	0.535	0.527

13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25
0.482	0.622	0.476	0.598	0.538	0.434	0.598	0.560	0.494	0.408	0.548	0.602	0.598
0.588	0.622	0.454	0.538	0.48	0.508	0.576	0.53	0.508	0.364	0.462	0.574	0.594
0.586	0.44	0.556	0.538	0.482	0.478	0.62	0.478	0.508	0.468	0.564	0.59	0.572
0.538	0.450	0.476	0.554	0.510	0.496	0.622	0.578	0.598	0.434	0.584	0.590	0.622
0.612	0.518	0.482	0.616	0.604	0.442	0.562	0.544	0.418	0.426	0.58	0.626	0.622
0.492	0.47	0.418	0.616	0.612	0.44	0.662	0.552	0.416	0.412	0.494	0.52	0.594
0.550	0.520	0.477	0.577	0.538	0.466	0.607	0.540	0.490	0.419	0.539	0.584	0.600

26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38
0.618	0.618	0.618	0.672	0.682	0.612	0.644	0.690	0.634	0.596	0.578	0.600	0.604
0.716	0.514	0.74	0.788	0.654	0.636	0.734	0.726	0.72	0.626	0.526	0.586	0.57
0.636	0.782	0.612	0.788	0.656	0.798	0.624	0.616	0.672	0.594	0.526	0.586	0.564
0.672	0.720	0.708	0.734	0.722	0.670	0.518	0.648	0.674	0.606	0.600	0.564	0.564
0.66	0.732	0.614	0.66	0.734	0.616	0.584	0.622	0.59	0.664	0.556	0.418	0.5
0.514	0.734	0.632	0.664	0.732	0.634	0.588	0.688	0.664	0.632	0.598	0.538	0.51
0.636	0.683	0.654	0.718	0.697	0.661	0.615	0.665	0.659	0.620	0.564	0.549	0.552

39	40	41	42	43	44	45	46	47	48
0.520	0.560	0.506	0.532	0.558	0.518	0.498	0.542	0.532	0.600
0.498	0.586	0.59	0.506	0.492	0.588	0.598	0.63	0.53	0.538
0.49	0.534	0.514	0.506	0.578	0.588	0.646	0.63	0.584	0.54
0.680	0.630	0.514	0.508	0.598	0.508	0.534	0.632	0.540	0.606
0.62	0.5	0.55	0.534	0.592	0.478	0.558	0.51	0.586	0.532
0.544	0.6	0.538	0.532	0.512	0.532	0.528	0.51	0.51	0.53
0.559	0.568	0.535	0.520	0.555	0.535	0.560	0.576	0.547	0.558

***Bacillus* PL01 Medium LB**

jam ke	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
kultur 1	0.308	0.362	0.354	0.390	0.466	0.478	0.466	0.594	0.666	0.718	0.698	0.752	0.544
	0.308	0.362	0.352	0.388	0.474	0.476	0.464	0.574	0.662	0.718	0.696	0.75	0.542
kultur 2	0.326	0.31	0.326	0.402	0.472	0.528	0.484	0.548	0.55	0.714	0.724	0.802	0.688
	0.328	0.316	0.346	0.410	0.470	0.446	0.514	0.534	0.724	0.786	0.742	0.794	0.682
kultur 3	0.308	0.336	0.38	0.356	0.48	0.486	0.47	0.5	0.564	0.482	0.614	0.764	0.608
	0.306	0.334	0.38	0.354	0.478	0.484	0.468	0.502	0.562	0.478	0.61	0.762	0.618
rata2	0.314	0.337	0.356	0.383	0.473	0.483	0.478	0.542	0.621	0.649	0.681	0.771	0.614

13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25
0.678	0.674	0.770	0.768	0.920	0.800	0.882	0.768	0.950	0.984	1.070	0.868	0.888
0.674	0.728	0.766	0.764	0.784	0.798	0.876	0.766	0.944	0.978	1.06	0.862	0.882
0.624	0.726	0.776	0.868	0.754	0.796	0.878	0.782	0.886	0.706	0.872	0.914	0.9
0.638	0.722	0.590	0.744	0.812	0.812	0.878	0.758	1.054	0.750	0.860	0.900	0.908
0.618	0.778	0.672	0.786	0.744	0.862	0.914	0.782	0.798	0.73	0.95	0.912	0.87
0.616	0.784	0.668	0.782	0.742	0.854	0.884	0.778	0.792	0.722	0.956	0.906	0.864
0.641	0.735	0.707	0.785	0.793	0.820	0.885	0.772	0.904	0.812	0.961	0.894	0.885

26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38
0.964	0.940	1.032	0.916	0.836	0.834	0.850	0.868	0.860	0.984	0.904	1.084	0.942
0.956	0.934	1.038	0.912	0.772	0.832	0.844	0.862	0.854	0.98	0.894	1.076	0.938
0.964	0.854	0.99	0.946	0.908	0.984	0.862	0.952	1.008	0.922	1.018	0.984	1.02
0.958	0.922	0.950	0.898	0.970	0.980	0.824	0.890	0.866	0.812	0.942	0.890	0.888
0.888	0.93	0.908	0.89	1.032	0.858	0.744	0.846	1.108	1.046	0.94	0.898	1.028
0.884	0.924	0.902	0.884	1.028	0.846	0.74	0.838	1.102	1.04	0.934	0.89	1.024
0.936	0.917	0.970	0.908	0.924	0.889	0.811	0.876	0.966	0.964	0.939	0.970	0.973

39	40	41	42	43	44	45	46	47	48
0.794	0.916	0.910	0.982	0.912	1.040	1.062	0.984	1.012	0.638
0.672	0.91	0.896	0.974	0.906	1.03	1.054	0.99	1.006	0.634
0.76	0.988	1.022	0.874	1.018	1.002	1.09	0.956	1.056	1.076
0.790	1.014	1.020	0.866	0.846	0.878	1.032	0.950	1.006	0.964
0.738	0.95	1.036	1.022	1.032	1.006	0.916	0.926	1.03	0.83
0.734	0.948	1.034	1.014	1.026	0.998	0.912	0.918	1.024	0.828
0.748	0.954	0.986	0.955	0.957	0.992	1.011	0.954	1.022	0.828

***Pseudomonas* PL01 Konsentrasi 0 MSG**

jam ke	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
kultur 1	0.158	0.176	0.202	0.268	0.308	0.366	0.418	0.476	0.352	0.428	0.376	0.376	0.410
	0.142	0.158	0.214	0.27	0.284	0.406	0.396	0.458	0.372	0.432	0.474	0.474	0.458
kultur 2	0.138	0.146	0.214	0.238	0.32	0.332	0.398	0.422	0.352	0.432	0.324	0.324	0.456
	0.138	0.162	0.212	0.238	0.284	0.332	0.396	0.402	0.352	0.366	0.322	0.322	0.406
kultur 3	0.178	0.16	0.192	0.24	0.254	0.394	0.476	0.402	0.266	0.392	0.458	0.458	0.406
	0.178	0.15	0.192	0.24	0.344	0.178	0.408	0.454	0.268	0.392	0.32	0.32	0.324
rata2	0.155	0.159	0.204	0.249	0.299	0.335	0.415	0.436	0.327	0.407	0.379	0.379	0.410

13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25
0.418	0.476	0.364	0.364	0.616	0.650	0.616	0.572	0.606	0.506	0.580	0.582	0.376
0.43	0.334	0.364	0.32	0.49	0.54	0.552	0.522	0.598	0.546	0.586	0.586	0.322
0.45	0.336	0.582	0.542	0.49	0.524	0.65	0.606	0.672	0.544	0.68	0.582	0.324
0.394	0.304	0.636	0.538	0.604	0.602	0.572	0.652	0.656	0.664	0.576	0.620	0.558
0.356	0.294	0.53	0.424	0.568	0.584	0.648	0.646	0.754	0.622	0.594	0.636	0.422
0.354	0.294	0.578	0.492	0.44	0.54	0.548	0.604	0.58	0.624	0.582	0.608	0.422
0.400	0.340	0.509	0.447	0.535	0.573	0.598	0.600	0.644	0.584	0.600	0.602	0.404

26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38
0.584	0.458	0.630	0.570	0.436	0.592	0.658	0.630	0.668	0.690	0.700	0.734	0.624
0.45	0.638	0.496	0.57	0.436	0.594	0.658	0.576	0.496	0.546	0.694	0.734	0.624
0.506	0.608	0.496	0.55	0.628	0.638	0.648	0.452	0.592	0.614	0.742	0.682	0.638
0.572	0.606	0.496	0.530	0.514	0.638	0.646	0.610	0.506	0.538	0.598	0.622	0.632
0.45	0.458	0.378	0.56	0.422	0.574	0.624	0.576	0.596	0.666	0.63	0.618	0.636
0.45	0.502	0.504	0.486	0.574	0.566	0.624	0.556	0.506	0.65	0.698	0.618	0.63
0.502	0.545	0.500	0.544	0.502	0.600	0.643	0.567	0.561	0.617	0.677	0.668	0.631

39	40	41	42	43	44	45	46	47	48
0.680	0.736	0.704	0.588	0.628	0.614	0.662	0.630	0.616	0.632
0.678	0.632	0.758	0.686	0.562	0.618	0.606	0.634	0.62	0.636
0.594	0.578	0.622	0.614	0.5	0.706	0.478	0.562	0.632	0.618
0.602	0.716	0.744	0.686	0.644	0.710	0.484	0.572	0.638	0.618
0.678	0.674	0.672	0.582	0.65	0.638	0.654	0.62	0.606	0.562
0.678	0.702	0.672	0.592	0.65	0.628	0.616	0.786	0.604	0.564
0.652	0.673	0.695	0.625	0.606	0.652	0.583	0.634	0.619	0.605

***Pseudomonas* PL01 Konsentrasi 0,5 MSG**

jam ke	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
kultur 1	0.264	0.210	0.340	0.350	0.434	0.576	0.412	0.572	0.518	0.550	0.266	0.436	0.240
	0.254	0.21	0.34	0.35	0.436	0.586	0.264	0.572	0.516	0.576	0.258	0.382	0.24
kultur 2	0.252	0.254	0.368	0.38	0.446	0.442	0.556	0.542	0.548	0.574	0.258	0.38	0.468
	0.224	0.250	0.368	0.406	0.344	0.480	0.556	0.594	0.548	0.464	0.360	0.416	0.308
kultur 3	0.124	0.288	0.332	0.386	0.428	0.498	0.446	0.584	0.382	0.534	0.242	0.358	0.506
	0.124	0.29	0.318	0.388	0.43	0.5	0.446	0.584	0.382	0.532	0.25	0.358	0.504
rata2	0.207	0.250	0.344	0.377	0.420	0.514	0.447	0.575	0.482	0.538	0.272	0.388	0.378

13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25
0.302	0.804	0.640	0.520	0.890	0.700	0.748	0.626	0.728	0.770	0.776	0.642	0.798
0.534	0.802	0.642	0.52	0.888	0.702	0.746	0.626	0.73	0.77	0.778	0.64	0.796
0.538	0.478	0.498	0.584	0.72	0.728	0.682	0.72	0.704	0.62	0.752	0.468	0.488
0.496	0.480	0.470	0.640	0.718	0.726	0.586	0.808	0.768	0.706	0.688	0.692	0.698
0.622	0.38	0.362	0.67	0.888	0.672	0.742	0.76	0.64	0.552	0.712	0.76	0.848
0.516	0.38	0.362	0.674	0.766	0.672	0.742	0.76	0.666	0.716	0.652	0.726	0.702
0.501	0.554	0.496	0.601	0.812	0.700	0.708	0.717	0.706	0.689	0.726	0.655	0.722

26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38
0.716	0.840	0.720	0.982	1.102	0.840	0.860	0.900	0.778	0.934	0.856	0.684	0.696
0.766	0.82	0.72	0.982	1.1	0.84	0.858	0.898	0.858	0.932	0.858	0.684	0.802
0.584	0.632	0.526	0.874	0.916	0.962	0.732	0.902	0.858	0.838	0.558	0.658	0.806
0.584	0.628	0.520	0.858	0.814	0.902	0.730	1.014	0.868	0.742	0.810	0.806	0.656
0.684	0.854	0.6	0.938	0.952	1.052	1.01	0.95	0.996	0.676	0.69	0.922	0.848
0.678	0.722	0.6	1.038	0.962	1.05	1.008	0.95	0.974	0.674	0.73	0.732	0.85
0.669	0.749	0.614	0.945	0.974	0.941	0.866	0.936	0.889	0.799	0.750	0.748	0.776

39	40	41	42	43	44	45	46	47	48
0.670	0.962	0.952	0.846	1.090	0.916	1.060	0.986	0.948	1.104
0.67	0.962	0.952	0.846	1.088	0.916	1.06	0.986	0.952	1.09
0.688	1.058	0.842	0.944	0.762	0.982	0.992	1.06	0.95	0.904
0.796	0.902	0.824	0.842	1.030	1.046	0.850	0.978	0.992	1.070
0.588	0.92	0.81	0.974	0.85	1.042	1.106	0.988	0.954	0.964
0.588	0.92	0.808	0.976	0.968	0.962	1.122	0.988	0.952	0.808
0.667	0.954	0.865	0.905	0.965	0.977	1.032	0.998	0.958	0.990

Pseudomonas PL01 Konsentrasi 1 MSG

jam ke	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
kultur 1	0.336	0.202	0.254	0.428	0.360	0.426	0.532	0.662	0.524	0.590	0.628	0.566	0.536
	0.334	0.202	0.254	0.428	0.38	0.428	0.534	0.66	0.524	0.574	0.624	0.558	0.534
kultur 2	0.3	0.238	0.324	0.336	0.38	0.466	0.54	0.632	0.572	0.596	0.574	0.626	0.572
	0.318	0.234	0.292	0.364	0.314	0.366	0.542	0.586	0.632	0.608	0.578	0.558	0.568
kultur 3	0.326	0.258	0.278	0.328	0.34	0.356	0.558	0.568	0.572	0.514	0.584	0.68	0.588
	0.326	0.258	0.278	0.4	0.324	0.358	0.558	0.568	0.572	0.514	0.586	0.682	0.594
rata2	0.323	0.232	0.280	0.381	0.350	0.400	0.544	0.613	0.566	0.566	0.596	0.612	0.565

13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25
0.554	0.530	0.562	0.500	0.554	0.538	0.518	0.648	0.556	0.624	0.510	0.612	0.514
0.584	0.528	0.544	0.5	0.524	0.54	0.52	0.65	0.604	0.624	0.494	0.612	0.514
0.622	0.524	0.534	0.498	0.516	0.534	0.554	0.502	0.428	0.54	0.468	0.488	0.496
0.556	0.522	0.594	0.498	0.554	0.534	0.582	0.566	0.426	0.708	0.510	0.518	0.498
0.562	0.508	0.506	0.562	0.478	0.45	0.488	0.65	0.486	0.544	0.494	0.466	0.526
0.562	0.506	0.506	0.56	0.48	0.436	0.486	0.65	0.484	0.542	0.494	0.464	0.528
0.573	0.520	0.541	0.520	0.518	0.505	0.525	0.611	0.497	0.597	0.495	0.527	0.513

26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38
0.578	0.586	0.716	0.748	0.602	0.698	0.760	0.720	0.850	0.908	0.994	0.976	0.832
0.732	0.584	0.716	0.75	0.602	0.7	0.762	0.72	0.85	0.91	0.988	0.886	0.834
0.646	0.764	0.648	0.668	0.62	0.68	0.712	0.634	0.784	0.79	1.016	0.868	0.644
0.688	0.686	0.610	0.670	0.620	0.740	0.784	0.696	0.782	0.794	1.080	0.974	0.794
0.69	0.786	0.784	0.72	0.716	0.678	0.734	0.78	0.872	0.87	0.828	0.888	0.996
0.69	0.786	0.782	0.722	0.76	0.682	0.734	0.782	0.872	0.874	0.832	0.894	0.954
0.671	0.699	0.709	0.713	0.653	0.696	0.748	0.722	0.835	0.858	0.956	0.914	0.842

39	40	41	42	43	44	45	46	47	48
1.054	1.004	1.068	0.858	0.794	0.952	0.808	1.004	0.826	0.856
0.938	1.002	0.97	0.856	1.024	0.952	0.808	1.004	0.824	0.854
0.838	0.912	1.06	0.978	0.908	0.856	0.834	0.836	0.858	0.928
0.912	0.986	1.010	0.852	0.860	0.858	0.974	0.952	0.924	0.880
1.004	1.054	0.924	0.928	1.062	0.914	0.91	0.792	0.84	0.78
1.006	1.052	0.924	0.928	0.788	0.912	0.912	0.782	0.842	0.782
0.959	1.002	0.993	0.900	0.906	0.907	0.874	0.895	0.852	0.847

***Pseudomonas* PL01 Konsentrasi 1,5 MSG**

jam ke	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
kultur 1	0.246	0.292	0.256	0.326	0.438	0.438	0.542	0.572	0.572	0.632	0.652	0.666	0.554
	0.308	0.226	0.338	0.308	0.446	0.438	0.512	0.576	0.58	0.654	0.662	0.602	0.684
kultur 2	0.244	0.198	0.338	0.306	0.446	0.448	0.496	0.572	0.602	0.584	0.664	0.602	0.692
	0.214	0.174	0.240	0.372	0.404	0.558	0.462	0.582	0.604	0.652	0.612	0.712	0.642
kultur 3	0.264	0.2	0.234	0.402	0.458	0.438	0.538	0.594	0.66	0.59	0.596	0.688	0.692
	0.302	0.254	0.202	0.334	0.402	0.276	0.584	0.53	0.64	0.692	0.628	0.76	0.71
rata2	0.263	0.224	0.268	0.341	0.432	0.433	0.522	0.571	0.610	0.634	0.636	0.672	0.662

13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25
0.714	0.682	0.744	0.816	0.698	0.720	0.926	0.754	0.782	0.744	0.826	0.786	0.784
0.666	0.678	0.704	0.738	0.736	0.73	0.754	0.808	0.784	0.728	0.666	0.788	0.85
0.668	0.678	0.742	0.762	0.736	0.754	0.798	0.878	0.782	0.726	0.682	0.788	0.876
0.748	0.826	0.740	0.800	0.850	0.670	0.900	0.910	0.746	0.614	0.688	0.746	0.860
0.628	0.776	0.726	0.684	0.738	0.768	0.754	0.808	0.712	0.614	0.734	0.692	0.786
0.75	0.698	0.734	0.7	0.702	0.648	0.854	0.806	0.738	0.71	0.718	0.69	0.818
0.696	0.723	0.732	0.750	0.743	0.715	0.831	0.827	0.757	0.689	0.719	0.748	0.829

26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38
0.862	0.752	0.792	0.776	0.788	0.834	0.922	1.030	0.944	0.948	0.986	0.964	0.966
0.714	0.75	0.866	0.806	0.71	0.846	0.888	0.976	1.014	0.984	0.906	0.902	0.87
0.714	0.914	0.878	0.91	0.904	0.772	0.85	0.982	0.924	0.926	0.82	1.1	0.868
0.606	0.930	0.876	0.918	0.792	0.710	0.850	0.990	1.034	0.972	0.874	0.868	1.078
0.86	0.706	0.864	0.932	0.902	0.974	0.958	0.84	0.882	0.898	1.006	0.836	0.934
0.884	0.786	0.862	0.848	0.866	0.824	0.864	1.036	0.996	0.992	0.834	1.078	0.898
0.773	0.806	0.856	0.865	0.827	0.827	0.889	0.976	0.966	0.953	0.904	0.958	0.936

39	40	41	42	43	44	45	46	47	48
0.908	0.958	1.106	1.026	1.014	0.952	1.066	1.002	0.874	1.056
0.762	0.928	1.132	1.092	1.188	0.956	1.046	0.95	1.078	0.822
0.868	1.03	0.972	1.174	1.106	1.172	1.284	0.95	1.078	1.002
0.870	1.120	0.966	1.104	1.070	1.106	1.240	1.070	0.988	0.974
0.936	0.958	0.884	0.966	1.062	1.064	1.058	0.93	0.892	1.012
1.106	1.154	0.88	0.968	1.09	1.056	0.92	0.91	0.88	0.932
0.908	1.025	0.990	1.055	1.088	1.051	1.102	0.969	0.965	0.966

Pseudomonas PL01 Konsentrasi 2 MSG

jam ke	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
kultur 1	0.322	0.410	0.396	0.536	0.484	0.488	0.578	0.628	0.712	0.598	0.600	0.820	0.750
	0.322	0.41	0.458	0.482	0.486	0.486	0.578	0.63	0.648	0.696	0.778	0.834	0.75
kultur 2	0.326	0.372	0.378	0.438	0.586	0.558	0.56	0.564	0.642	0.794	0.72	0.834	0.778
	0.290	0.366	0.394	0.462	0.504	0.562	0.568	0.542	0.668	0.690	0.798	0.716	0.798
kultur 3	0.342	0.346	0.406	0.474	0.53	0.57	0.562	0.592	0.732	0.636	0.68	0.772	0.804
	0.342	0.346	0.406	0.474	0.53	0.568	0.558	0.592	0.722	0.84	0.692	0.868	0.84
rata2	0.324	0.375	0.406	0.478	0.520	0.539	0.567	0.591	0.687	0.709	0.711	0.807	0.787

13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25
0.796	0.826	0.786	0.922	0.836	0.860	0.676	0.842	0.948	0.740	0.866	0.804	0.928
0.798	0.87	0.788	0.924	0.894	0.932	0.912	0.866	0.868	0.74	0.804	0.964	0.932
0.826	0.706	0.716	0.78	0.746	0.928	0.822	0.7	0.878	0.794	0.704	0.79	0.87
0.812	0.716	0.792	0.780	0.766	0.984	0.842	0.944	0.834	0.744	0.848	0.876	0.868
0.628	0.816	0.82	0.782	0.776	0.808	0.908	0.878	0.866	0.788	0.846	0.796	0.918
0.798	0.812	0.818	0.782	0.788	0.802	0.908	0.876	0.862	0.85	0.768	0.794	0.768
0.776	0.791	0.787	0.828	0.801	0.886	0.845	0.851	0.876	0.776	0.806	0.837	0.881

26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38
0.904	0.874	0.940	0.922	0.882	0.986	0.928	0.954	0.966	1.022	1.064	1.022	0.908
0.944	0.894	0.86	0.86	0.89	0.958	1.118	0.874	1.034	0.968	1.046	0.946	0.972
1.022	0.954	1.034	0.834	0.934	0.93	0.974	0.862	1.02	0.874	0.968	1.05	0.894
0.864	0.956	0.928	0.926	0.932	0.924	0.976	0.976	1.054	0.750	1.046	0.892	0.848
0.78	0.806	0.86	0.868	0.838	0.808	0.924	0.888	0.884	1.022	0.978	0.86	1.006
0.88	0.93	0.878	0.94	0.972	0.876	0.93	0.886	1.014	0.86	1.04	0.856	1.008
0.899	0.902	0.917	0.892	0.908	0.914	0.975	0.907	0.995	0.916	1.024	0.938	0.939

39	40	41	42	43	44	45	46	47	48
0.802	0.740	0.836	0.918	0.936	0.832	1.136	0.872	1.062	0.984
0.91	0.716	0.978	0.822	0.732	0.984	0.89	1.042	0.93	1.084
0.94	0.916	0.894	0.904	0.958	1.072	1.006	1.122	1.026	1.26
0.780	0.916	0.790	1.046	1.046	1.072	1.010	0.968	1.210	1.092
0.928	0.968	0.934	0.992	0.986	0.848	0.9	1.074	1.116	1.15
0.776	0.874	0.956	0.864	0.802	1.004	0.912	1.074	1.114	0.932
0.856	0.855	0.898	0.924	0.910	0.969	0.976	1.025	1.076	1.084

***Pseudomonas* PL01 Konsentrasi Medium LB**

jam ke	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
kultur 1	0.486	0.452	0.510	0.418	0.218	0.584	0.550	0.548	0.426	0.442	0.438	0.630	0.612
	0.4	0.42	0.484	0.372	0.286	0.52	0.576	0.52	0.464	0.49	0.442	0.626	0.642
kultur 2	0.416	0.456	0.456	0.372	0.308	0.544	0.576	0.592	0.448	0.488	0.536	0.624	0.642
	0.518	0.480	0.408	0.380	0.478	0.520	0.570	0.592	0.468	0.448	0.494	0.594	0.644
kultur 3	0.478	0.48	0.524	0.404	0.252	0.596	0.65	0.58	0.62	0.416	0.488	0.65	0.686
	0.496	0.464	0.374	0.404	0.184	0.47	0.58	0.636	0.65	0.398	0.43	0.596	0.532
rata2	0.466	0.459	0.459	0.392	0.288	0.539	0.584	0.578	0.513	0.447	0.471	0.620	0.626

13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25
0.630	0.512	0.532	0.822	0.880	0.894	0.828	0.852	0.792	1.038	1.190	1.194	1.108
0.632	0.442	0.494	0.768	0.92	0.822	0.826	0.902	0.776	1.268	1.216	1.206	1.162
0.616	0.442	0.542	0.766	0.884	0.822	0.864	0.842	0.774	1.1	1.216	1.202	1.168
0.764	0.620	0.534	0.856	0.922	0.876	0.840	0.774	0.786	1.294	1.186	1.222	1.328
0.656	0.614	0.5	0.94	0.914	0.91	0.87	0.894	0.694	1.25	1.25	1.208	1.138
0.61	0.512	0.566	0.788	0.89	0.904	0.868	0.902	0.906	1.202	1.3	1.25	1.134
0.651	0.524	0.528	0.823	0.902	0.871	0.849	0.861	0.788	1.192	1.226	1.214	1.173

26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38
1.210	1.100	1.084	1.072	1.106	1.156	1.268	1.274	1.032	1.174	1.138	0.922	1.024
0.994	1.2	1.204	1.074	1.126	1.134	1.26	1.3	0.912	1.048	1.136	0.942	0.978
1.088	1.2	1.004	1.076	1.052	1.132	1.164	1.298	0.91	1.286	1.194	1.186	1.168
1.202	1.168	1.148	1.130	1.102	1.168	1.294	1.166	1.132	1.236	1.260	1.184	1.168
1.246	1.112	1.266	1.136	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1.242	1.048	1.25	1.23	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1.164	1.138	1.159	1.120	0.731	0.765	0.831	0.840	0.664	0.791	0.788	0.706	0.723

39	40	41	42	43	44	45	46	47	48
1.134	1.116	1.228	0.940	0.978	0.896	1.300	1.284	1.066	1.092
1.008	1.294	1.28	1.08	0.94	0.964	1.218	1.208	1.096	0.96
1.224	1.294	1.28	1.152	0.942	0.848	1.188	1.208	1.096	1.196
1.226	1.086	1.218	1.152	1.002	0.898	1.340	1.168	1.120	1.194
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0.765	0.798	0.834	0.721	0.644	0.601	0.841	0.811	0.730	0.740

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian MSG terhadap pertumbuhan isolat bakteri *Bacillus* PL01 dan *Pseudomonas* PL01 pada MSM. Hasil yang diperoleh yaitu:

- Pada *Bacillus* PL01 pertumbuhan tertinggi terjadi pada konsentrasi 0,5 gr/L MSG dimana pertumbuhannya melebihi pertumbuhan dengan medium LB. Namun terjadi penurunan pertumbuhan seiring dengan peningkatan konsentrasi MSG (1 gr/L MSG, 1,5 gr/L MSG, dan 2 gr/L MSG).
- Pada *Pseudomonas* PL01, semakin tinggi konsentrasi MSG, maka pertumbuhan *Pseudomonas* PL01 tampak semakin tinggi pula. Pertumbuhan tertinggi terjadi pada konsentrasi 2 gr/L MSG, namun pertumbuhan yang tampak masih berada dibawah LB.
- Berdasarkan hasil pengukuran sel, penambahan 0,5 gr/L MSG mampu memberikan pengaruh tertinggi pada pertumbuhan sel *Bacillus* PL01 dengan ukuran sel mencapai 1,8 μ m x 1,2 μ m. Sedangkan pada *Pseudomonas* PL01 ukuran sel tertinggi terjadi pada konsentrasi 2 gr/L MSG yang mencapai 2,4 μ m x 1,1 μ m, dimana pada pengukuran sel tampak bahwa sel-sel *Pseudomonas* PL01 membentuk rantai panjang.

5.2. Saran

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan maka penelitian selanjutnya dapat dilakukan uji lebih lanjut terhadap pertumbuhan bakteri *Pseudomonas* PL01 karena ada kemungkinan nilai absorbansi pada MSG lebih tinggi dibanding pada kontrol LB dilihat dari adanya fenomena pembentukan formasi rantai pada sel-sel *Pseudomonas* PL01.

“Halaman ini sengaja dikosongkan”

DAFTAR PUSTAKA

Ahmed, Z., H. Banu, M. M.Rahman, F. Akhter, and M.S. Haque .2001. Microbial activity on the degradation of lignocellulosic polysaccharides. *OnLine Journal of Biological Sciences*. 1(10), 993-997.

Almatsier, S .2006. **Prinsip Dasar Ilmu Gizi, edisi ke-6**. Jakarta: Gramedia Pustaka utama

Ardyanto, T.D .2004. MSG dan Kesehatan: Sejarah, Efek dan Kontroversinya. *Kesehatan*. 16(1):1.

Backman, P.A, P.M. Brannnen, and W.F. Mahaffe.1994. Plant Respon and Disease Control Following Seed Inoculation with *Bacillus* sp. Australia: **Pruc Third Int Work PGPR South Australia**.

Benton, D. 2008. Micronutrient status, cognition and behavioral problems in childhood. *Eur. J. Nutr.* 47, 38–50.

Benson. 2001. Microbiological Application. New York: **Mc. Graw Hill Publisher**

Berber, I. 2004. Characterization of *Bacillus* Spesies By Numerical Analysis of Their SDS-PAGE protein Profiles. *Journal of Cell and Molecular Biology* 3:33-37.

Berg, J.M., J.L. Tymoczko, and L. Stryer. 2007. **Biochemistry, 6th** edn. New York, NY: Friedman & Co.

Bezkorovainy, A., 2001. Probiotics: determinants of survival and growth in the gut. *Am. J. Clin. Nutr.* 73, 399S-405S

Brosnan, J.T. 2000. Glutamate, At The Interface Between Amino Acid And Carbohydrate Metabolism. **International Symposium**

on Glutamate, Proceedings of the symposium held October, 1998 in Bergami, Italy. J. Nutr. 130 (Suppl.): 988S – 990S.

Caggiano, R., M., Macchiato, and S. Trippetta, .2010. Levels, chemical composition and sources of fine aerosol particles (PM1) in an area of the Mediterranean basin, **Sci. Total Environ.**, 408, 884–895.

Canbolat, M.Y., S., Bilen, R. Cakmakci, S. Ahin, and F. Aydin .2006. Effect of plant growth promoting bacteria and soil compaction on barley seedling growth, nutrient uptake, soil properties and rhizosphere microflora. **Biol. Fertil. Soils.** 42, 350-357.

Combs Jr., .2000. Food system-based approaches to improving micronutrient nutrition: **the case for selenium. Biofactors** 12, 39–43

Corry j., h. atabay, j. forsythes, and l. mansfield .2003. Culture media for the isolation of campylobacters, helicobacter and arcobacters. **In: Handbook of Culture Media for Food Microbiology, Second Edition**, Corry J.E.L., Curtis G.D.W. & Baird R.M. eds. Elsevier, Amsterdam, The Netherlands, 271–315.

Deacon,Jim.2003.**The Microbialworld Profils of Microorganisms**.<http://helios.bto.ed.ac.uk>. Institute of Cell and Molecular Biology and Biology Teaching Organisation. University of Edinburgh

Evans KL, J. Crowder, and E. Miller .2000. Subtilisins of *Bacillus* spp. hydrolyse keratin and allow growth on feathers **Can. J. Microbiol.** 46 (11): 1004-1011.

Fadilah, F.R. and M. Shovitri .2014. Potensi Isolat Bakteri *Bacillus* dalam Mendegradasi Plastik dengan Metode Kolom Winogradsky. **Jurnal Teknik Pomits.** Vol. 3, No. 2

Fraga, C.G and P.I., Oteiza, .2002. Iron toxicity and antioxidant nutrients. **Toxicology** 180, 23–32.

Eweka, A.O., P.S. Igbigbi and R.E. Ucheya .2011. Histochemical Studies Of The Effects Of Monosodium Glutamate On The Liver Of Adult Wistar Rats. **Ann.Med.Health Sci.Res.** 1

Freshney, R. I. .2005. **Culture of animal cells: a manual of basic techniques.** 5th ed.Hoboken, New Jersey. John Wiley & sonsInc.

Ganong WF. 1983. Perkembangan dan fungsi sistem reproduksi. Dalam: **Fisiologi Kedokteran. Edisi 10. Jakarta:EGC;1983.h.360-95**

Geha, R., A. Beiser, C. Ren , R. Patterson, P. Greenberger, L. GraMSMer, A. Ditto, K. Harris, M. Saughnessy, P. Yarnold, J. Corrent and A. Saxon .2000. *Review of Alleged Reactionto Monosodium Glutamate and Outcome of a Multicenter Double-Blind Placebo-Controlled Study.* **The Journal of Nutrition**, 130, 1058S-1062S.

Giacometti T. 2002. **Free and bound glutamate in natural products. In: Glutamic Acid:Advances in Biochemistry** (Filer, L.J., Garattini, S., Kare, M.R., Reynolds, W.A. and Wurtman, R.J., eds), Raven Press, New York; 1979:25 –34. Melalui: <<http://jn.nutrition.org/cgi/content/full/130/4/892S>>.

Giovan, B. , franca, and S Calandra, .2003. ***Modullatory Effect of leptin on Leydig Cell Function of Normal and Hiperleptinemia rats***, Reproduksi

Harinaldi. 2005. **Prinsip-Prinsip Statistik untuk Teknik dan Sains.** Jakarta: Erlangga.

Harley dan Prescott. 2002. **Laboratory Exercises in Microbiology, Fifth Edition**. The McGraw-Hill Companies.

Harisha, S. 2006. **An Introduction to Practical Biotechnology**. New Delhi: Laxmi Publications.

Hogg, S., 2005, *Essensial Microbiology*, 102-103, John Wiley & Sons LtdEngland.

Holt, J. G., Krieg, N. R., Sneath, P. H. A. Staley, J. T., dan Williams, S. T. 1994. **Bergey's Manual of Determinative Bacteriology 9th edition**. Baltimore: Williams and Wilkins.

Hurrell, R.F., S. Lynch, T. Bothwell, H. Cori, R., Glahn, E. Hertrampf, Z. Kratky, D. Miller, M. Rodenstein, H. Streekstra, B. Teucher, E. Turner, C.K. Yeung, and M.B. Zimmermann. 2004. Enhancing the absorption of fortification iron, A sustain task force report. **Int. J. Vitam. Nutr. Res.** 74, 387–401

Ichida J.M, L. Krizova, C.A. Lefevre, H.M. Keener, D.L. Elwell, and E.B.Burt. 2001. Bacterial inoculum enhances keratine degradation and biofilm formation in poultry compost. **J. Microbiol. Methods** 47: 99-208.

Jawetz, Melnick, & Adelberg. 2004. *Mikrobiologi Kedokteran Edisi 23*. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta

Jinap, S., A.R Ilya-Nur, S.C. Tang, P. Hajeb, K. Shahrin and M. Khairunnisak. 2010. Sensory attributes of dishes containing shrimp paste with different concentrations of glutamate and 5'-nucleotides. **Appetite** 55:238-244.

Kennedy, E., L., Meyers. 2005. Dietary reference intakes: development and uses for assessment of micronutrient status of women-a global perspective. **Am. J. Clin. Nutr.** 81, 1194S–1197S

Khropycheva, R., H. Uneyama, K. Torii and V. Zolotarev. 2009. Dietary Monosodium Glutamate Enhances Gastric Secretion. **J Med Invest.**56 Suppl:218-23.

Kohen, R., Nyska, A.2002. Oxidation of Biological System : Oxidative Stress Phenomena, Antioxidant, Redox Reaction and Methods for Their Quantification. **Toxicologic Pathology**, 30:620-650

Laboffe, Michael J & Burton E Pierce. 2010. **Microbiology Laboratory Theory & Applications**. United State: Morton Publishing Company

Lehninger, A.L. 1982. Principles of Biochemistry. **United States of America** : Worth Publishers Inc

Lestienne, I., P. Besancon, B. Caporiccio, , V. Lullien-Pellerin, and S. Treche, .2005. Iron and zinc in vitro availability in pearl millet flours (pennisetum glaucum) with varying phytate, tannin, and fiber contents.**J. Agric. Food Chem.** 53, 3240–3247.

Loliger, J. 2000. Function And Importance Of Glutamate For Savory Of Foods. **The Journal of Nutrition** 130, 915S-920S

Madigan M.T., Martinko J.M., Stahl D.A., Clark D.P. 2012. **Biology of Microorganism. 13th ed.** San Francisco: Pearson. P. 140-141

Martin, E. A., .2007. **Oxford Concise Medical Dictionary. 7th ed.** New York: Oxford University Press.

McDonald, P., R.A. Edwards, and J.F.D. Greenhalgh .2007. Animal Nutrition. **John Willey and Sons Inc., New York.** p. 96–105.

Milton R.J. Salton dan Kwang-Shin Kim, 2001. ***Structur of Bacteria***. www.bact.wisc.edu. Departement of Bacteriology University of WisconsinMadison.USA

Minaxi., J., Saxena, S., Chandra, and L. Nain .2013. Synergistic effects of phosphate solubilizing rhizobacteria and arbuscular mycorrhiza fungi on growth and yield of wheat plants. **J. Soil Sci. Plant Nutr.** 13(2), 511-525.

Molina, EP. 2004. Female reproductive system. In:Endocrine Physiology. New York:**McGraw-Hill**;2004.p.207-25

Nishijima, T., K. Toyota, and M. Mochizuki .2005. Predominant culturable *Bacillus* species in Japanese arable soils and their potential as biocontrol agents. **Microbes and Environments** 20 (1): 61-68.

Peddie, C.J., G.M. Cook and H.W. Morgan .1999. Sodium-Dependent Glutamate Uptake by an Alkaliphilic, Thermophilic *Bacillus* Strain, TA2.A. **Journal Of Bacteriology**. 3172–3177

Pelczar, M.J. & E.C.S. Chan, 1986, Penterjemah , Ratna Siri Hadioetomo dkk. *Dasar-Dasar Mikrobiologi 1*, **Universitas Indonesia Press**. Jakarta.

Pramila, R., K. Padmavathy, V.K. Ramesh and K. Mahalakshmi .2012. *BreviBacillus parabrevis*, *Acinetobacter baumannii* And *Pseudomonas Citronellolis* -Potential Candidates For Biodegradation Of Low Density Polyethylene (LDPE). **J. Bacteriol. Res**, 4(1), pp. 9-14.

Prawirohardjono, W., I., Dwiprahasto, A., Indwiani, S., Hadiwandowo, E., Kristin, M., MuhaMSMad, and F.K. Michael, .2000. The Administration to Indonesians of Monosodium Lglutamat in Indonesian Foods: An Assessment of Adverse

Reactions in a Randomized. **Journal Of Nutrition**. 130(4): 10741076.

Prescott, Harley, Klein. 2008. **Microbiology, Seventh Edition**. New York: McGraw-Hill.

Reeds, P.J., D.G. Burrin, B. Stoll and F. Jahoor .2000. Intestinal Glutamate Metabolism. **International Symposium on Glutamate, Proceedings of the symposium held October, 1998 in Bergami, Italy. J. Nutr.** 130 (Suppl): 978S – 982S.

Saimmai, A., O. Rukadee, V. Sobhon and S.Maneerat. 2012. Biosurfactant Production by *Bacillus subtilis* TD4 and *Pseudomonas aeruginosa* SU7 Grown On Crude Glycerol Obtained From Biodiesel Production Plant As Sole Carbon Source. **Journal of Scientific and Industrial Research**. Vol. 71 396-406

Santoso, OS. 2008. **Beberapa data metabolisme MSG dalam tubuh dan tinjauan manfaat mudaratnya**. CDK 1987;57:29-32.Melalui: <[http://www.kalbe.co.id/files /cdk/_057_ hipertensi_\(ii\).pdf](http://www.kalbe.co.id/files /cdk/_057_ hipertensi_(ii).pdf)>

Shewry, P.R. 2006. Improving the protein content and quality of temperate cereals: Wheat, Barley and Rye, in Impacts of Agriculture on Human Health and Nutrition, [Eds. Ross M. Welch, and Ismail Çakmak], in Encyclopedia of Life Support Systems (EOLSS), Developed under the Auspices of the UNESCO, **Eolss Publishers, Oxford ,UK**, [<http://www.eolss.net>]

Singgih, Santoso.2008. **Panduan Lengkap Menguasai SPSS 16**. Penerbit : PT. Alex MediaKomputindao. Jakarta

Sosa-Peinado A, D., Mustafi , and M.W., Makinen .2000. Overexpression and biosynthetic deuterium enrichment of TEM-1 beta-lactamase for structural characterization by magnetic resonance methods. **Protein Expr Purif** 19(2):235–245

Sriningsih, A. and M. Shovitri .2015. Potensi Isolat Bakteri *Pseudomonas* Sebagai Pendegradasi Plastik. **Jurnal Sains dan Seni ITS**

Sukawan, Uke. 2008. **Efek toksik Monosodium Glutamat (MSG) pada binatang percobaan**. Universitas Indonesia. Jakarta

Timotius, K. H. 1982. **Mikrobiologi Dasar**. Salatiga: Universitas Kristen Satya Wacana

Todar, Kenneth, 2001. *Biological identity of Procaryotes*.
www.bact.wisc.edu. Departement of Bacteriology University of Wisconsin-Madison.USA.

Tortora, G.J., and B., Derrickson .2006. An Introduction to The Human Body. Principles of Anatomy and Physiology. 11th ed. USA: **John Wiley & Sons, Inc**, 4-7.

Vincent, J.B., 2004. Recent advances in the nutritional biochemistry of trivalent chromium. Proc. **Nutr.Soc.** 63, 41–47.

Walstra P, J.T.M., Wouters, and T.J., Geurts .2006. **Dairy Science and Technology**. Boca Raton: CRC Press.

Yateem A, M.T., Balba, Y. Al-Shayji, and N. Al-Awadhi .2002. **Isolation and characterization of biosurfactant-producing bacteria from oil-contaminated soil. Soil and Sediment Contamination** 11: 41-55.

Ynte P.D.E., M.V., ries Luc, W.M., Hornstra, and T.A. Vos .2004. Growth and Sporulation of *Bacillus cereus* ATCC 14579 under Defined Conditions: Temporal Expression of Genes for

Key Sigma Factors. **Appl. Environ. Microbiol.** 70(4): 2514-2519.

Young, V.R. and A.M., Ajami .2000. Glutamate: An Amino Acid Of Particular Distinction. **International Symposium on Glutamate, Proceedings of the symposium held October, 1998 in Bergami, Italy. J. Nutr.** 130 (Suppl.): 892S – 900S.

Yuliar. 2008. Skrining Bioantagonistik Bakteri untuk Agen Biokontrol *Rhizoctonia solani* dan Kemampuannya dalam Menghasilkan Surfaktan. **Jurnal Biodiversitas/ Vol.9/ No.2** hal 83-86.

"Halaman ini sengaja dikosongkan"

BIODATA PENULIS



Rizka Rahmawati atau yang akrab disapa Rizka lahir di Sidoarjo pada tanggal 21 Mei 1994. Penulis memulai pendidikan dasar di SDN Sukaluyu IV, Karawang Barat. Dari sini, mulai terlihat ketertarikannya mengenai ilmu alam. Setelah lulus, ia memulai jenjang menengah pertama di SMPN 1 Karawang Barat. Pada tahun 2012, penulis lulus dari SMA Negeri 1 Tambun Selatan dan pada tahun yang sama lulus seleksi masuk Institut Teknologi Sepuluh Nopember (ITS) melalui jalur Seleksi Nasional Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SNMPTN) Undangan. Selama kuliah di Institut Teknologi Sepuluh Nopember, penulis pernah bergabung dalam Himpunan Mahasiswa Biologi ITS sebagai Staff Departemen Media dan Hubungan Luar 13/14 dan menjadi Ketua Divisi Media Departemen Media dan Hubungan Luar Himpunan Mahasiswa Biologi ITS 14/15. Penulis juga aktif dalam mengikuti Program Kreativitas Mahasiswa (PKM) serta lolos didanai pada bidang PKM-Kewirausahaan tahun 2015. Diantara aktivitas studi dan organisasi, penulis juga pernah mengikuti PP LKMM VII FMIPA ITS, serta aktif mengikuti beberapa kepanitiaan di ITS seperti Interval (2013), ISTEK (2014), INTERN FMIPA (2014). Pada tahun 2015, penulis melaksanakan Kerja Praktek selama satu bulan di PPTMGB LEMIGAS Kebayoran Lama, Jakarta Selatan. Ketertarikan penulis pada dunia Mikrobiologi mendorong penulis untuk melaksanakan penelitian Tugas Akhir yang berjudul “Pengaruh Monosodium Glutamat (MSG) Komersial Terhadap Pertumbuhan Isolat Bakteri *Bacillus* PL01 Dan *Pseudomonas* PL01 pada *Mineral Salt Medium*”. Untuk keperluan penelitian, penulis dapat dihubungi melalui email rizzkarahmawati@gmail.com.